



DISPOSITIVOS NO INVASIVOS PARA MEDIR NIVELES DE GLUCOSA EN SANGRE

Liceth Nathalia Amortegui

Universidad ECCI
Facultad de Ingeniería
Bogotá D.C., Colombia
2017

Dispositivos no invasivos para medir niveles de glucosa en sangre

Liceth Nathalia Amortegui

Trabajo de investigación presentada(o) como requisito parcial para optar al título de:
Ingeniera Biomédica

Director (a):
PhD. Luis Javier Martínez

Universidad ECCI
Facultad de Ingeniería
Programa de Ingeniería Biomedica
Bogotá D.C., Colombia
2017

Agradecimientos

Agradezco primero a Dios por darme la oportunidad de existir día a día, por la inteligencia y el amor que me ha dado para hacer mis sueños realidad. A mis padres, María Rodríguez y Bautista Amórtegui por ser mi guía y fortaleza a lo largo de mi vida. A mis profesores Horderlin Robles y Luis Martínez por su paciencia y conocimientos compartidos.

Resumen

La señal foto acústica infrarroja que genera la glucosa es la clave para generar un método de medición no invasiva de los niveles de la misma en sangre, ya que el contenido de glucosa en el líquido intersticial tiene una similitud a los niveles de glucosa en sangre (un retraso de algunos minutos y un nivel de aprox. 80-90% exactitud). El fluido intersticial está presente en capas de la piel a una profundidad de sólo 15-50 μm y está dentro del alcance de energía del infrarrojo medio. Un método de medición no invasivo de los niveles de glucosa para los pacientes con diabetes podría reemplazar la medición convencional del pinchazo, reduciendo así el dolor y ser una alternativa rentable para millones de pacientes con diabetes.

Palabras clave: Espectroscopia Infrarroja, Glucosa, Diabetes, Método no Invasivo, Glucómetro

Abstract

The Infrared photoacoustic signal generated by glucose in the bloodstream is the key to generating a non-invasive method of measuring its levels in the blood, because the interstitial fluid glucose content has some similarity to the blood's glucose levels (There are a few minutes of delay approximately at an 80-90% level of accuracy). The interstitial fluid present in the layers of the skin with a depth of only 15 to 50 microns is within the scope of this mid-infrared energy spectrum. A non-invasive method of measuring glucose levels in patients with diabetes could replace the conventional measurement through skin puncture, thus reducing pain and be a cost effective alternative for millions of patients with diabetes.

Keywords: Infrared Spectroscopy, Glucose, Diabetes, non-invasive method

Contenido

	Pág.
Resumen	VII
Lista de figuras.....	XI
Lista de tablas	XII
Lista de ecuaciones	XII
Lista de Símbolos y abreviaturas.....	XIV
1. Planteamiento del Problema.....	19
2. Justificación.....	21
3. Objetivos	23
4. Marco Teorico.....	25
4.1 Clasificación de la Diabetes.....	25
4.1.1 Diabetes Mellitus Tipo 1.....	25
4.1.2 Diabetes Mellitus Tipo 2.....	26
Diabetes Mellitus Tipo 2 en Niños.....	26
4.1.3 Diabetes Gestacional.....	27
5. Estado del Arte	29
5.1 Avances.....	31
5.1.1 Técnicas no Invasivas Usadas para la Medición de Glucosa.....	32
Espectroscopia de Absorbancia.....	32
Espectroscopia de Infrarrojo.....	33
Espectroscopia de Infrarrojo Cercano.....	35
Espectroscopia de Infrarrojo Medio.....	35
Espectroscopia de Bioimpedancia.....	36
Espectroscopia de Emisión Térmica.....	36
Espectroscopia Ocular.....	36
Espectroscopia Ramán.....	36
Espectroscopia Foto acustica.....	37
Fluorescencia.....	37
Reflectancia Localizada con Temperatura Regulada.....	38
Polarimetría.....	38
Tomografía de Coherencia Óptica.....	38

Conformación de Calor Metabólico.....	39
Ultrasonido.....	39
Detección Electromagnética.....	39
Iontoforesis Reversa.....	39
5.1.2 Dispositivos no Invasivos.....	40
GlucoWatch® G2 Biographer.....	40
Pendra®.....	41
GlucoTrack™.....	42
Orsense.....	42
SpectRx Inc.....	43
Symphony®.....	44
ImasD Health.....	44
Wearebles.....	45
Monitorización Flash de Glucosa.....	46
Medisensor C8.....	47
Diasensor.....	48
5.1.3 Otros Avances.....	48
6. Metodología Propuesta	50
6.1 Análisis del Fluido Intersticial In-Vitro e In-Vivo con láseres en cascada. - QCL.....	50
6.1.1 Modelos de Epidermis.....	50
6.1.2 Muestras de Líquido Intersticial Real.....	50
6.1.3 Espectroscopia Infrarroja de Transformada de Fourier (FT- IR).....	51
6.1.4 UV/VIS y Espectroscopia de Electroforesis en gel de muestras de Fluido Intersticial.....	51
6.1.5 Espectroscopia Foto acústica de la piel.....	51
6.1.6 Análisis in vivo del fluido intersticial.....	51
6.2 Identificación de Longitudes de Onda para la medición no invasiva de glucosa en sangre en el Espectro NIR y MIR.....	52
6.2.1 Diseño Experimental.....	52
6.2.2 Procesamiento de Datos.....	53
6.2.3 Selección de regiones y longitudes de onda.....	54
6.2.4 Validación de los Modelos.....	55
6.2.5 Resultados.....	56
7. Análisis en Colombia.....	62
8. Conclusiones.....	69
Bibliografía	71

Lista de figuras

	Pág.
Figura 5-1: Tipo de Longitud de Onda de la Radiación.....	33
Figura 5-2: Longitud de Onda de Espectro NIR y MIR.....	34
Figura 5-3: GlucoWatch® G2 Biographer	40
Figura 5-4: Pendra®.....	41
Figura 5-5: GlucoTrack™.....	42
Figura 5-6: Orsense.....	42
Figura 5-7: SpectRx Inc.	43
Figura 5-8: Symphony®.....	44
Figura 5-9: ImasD Health.....	44
Figura 5-10: FreeStyle Libre	46
Figura 5-11: Medisensor C8	47
Figura 5-12: Diasensor®.....	48
Figura 6-1: Esquema de procesamiento de las señales de transmitancia en las regiones NIR y MIR.	53
Figura 6-2: Esquema de identificación de longitudes de onda y aplicación de modelos de regresión.....	55
Figura 6-3: Factor de mérito de muestras de plasma en la región del cercano infrarrojo (NIR): Señales filtradas sin procesamiento adicional correspondientes a muestras del sujeto A.	57
Figura 6-4: Información mutua de en la región del cercano infrarrojo (NIR): Señales filtradas sin procesamiento adicional correspondientes a muestras del sujeto A.	57
Figura 6-5: Identificación de regiones más relevantes en el espectro Infrarrojo Medio (MIR): Señales filtradas sin procesamiento adicional correspondientes a muestras del sujeto A.	58
Figura 6-6: Identificación de regiones más relevantes en el espectro Infrarrojo Cercano (NIR): Señales filtradas sin procesamiento adicional correspondientes a muestras del sujeto A.	59
Figura 7-1: Prototipo SOKIS	61
Figura 7-2: Prototipo SOKIS	64
Figura 7-3: Prototipo SOKIS.	67

Lista de tablas

	Pág.
Tabla 1: Los valores de la concentración de glucosa, albúmina y lactato de sodio se combinan para producir el líquido intersticial de 63 muestras simuladas.....	50
Tabla I: Selección de modelos en la region del medio infrarrojo.....	56
Tabla II: Selección de modelos en la region del cercano infrarrojo.....	56
Tabla III: Regiones coincidentes con estudios anteriores en la region cercana del Infrarrojo.....	65
Tabla IV: Regiones coincidentes con estudios anteriores en la region media del Infrarrojo.....	66

Lista de ecuaciones

	Pág.
Ecuacion 1: Factor de Merito.....	54
Ecuacion 2: Diferencia de la entropía entre X y Y.....	55

Lista de Símbolos y abreviaturas

Símbolos con letras latinas

Símbolo	Término	Unidad SI	Definición
SaO_2	Saturación de Oxígeno en Sangre	%	$\frac{HbO_2}{(HbO_2 + Hb)}$
CH_3	Radical Metilo	mol	$PbMe_4 \rightarrow Pb + 4Me\cdot$
cm	Centímetro	m	$10^{-2}m$
CO_2	Dióxido de Carbono	mol	(Ba(OH) ₂) + Agua de Barita
Hz	Hercio	s^{-1}	$\frac{1}{s}$
Na^+	Sodio	u	
K^+	Potasio	u	
pH	Medida de acidez	1	$pH = -\log_{10} [a_{H^+}]$
mm	Milímetro	m	$10^{-3}m$
Cl^-	Cloro	u	
$pmol$	Picomol	mol	$10^{-12}mol$
H_2O_2	Peróxido de Hidrogeno	mol	
GOx	Glucosa Oxidasa	mol	
cm^3	Centímetro cubico	m^{-3}	$10^{-6}m^3$
gr	Gramos	kg	$10^{-3}kg$
mg	Miligramos	kg	0,000001kg
dL	Decilitros	L	0,1L
t	Tiempo	s	
cm^{-1}	Longitud de Onda	κ	$\frac{2\pi}{\lambda}$

Símbolos con letras griegas

Símbolo	Término	Unidad SI	Definición
λ	Longitud de Onda	m	$\frac{h}{p}$
ηm	Nanometro	m	$10^{-9}m$
μm	Micrómetro	m	$10^{-3}m$
μA	Microamperio	A	$10^{-3}A$
ηA	Nanoamperio	A	$10^{-9}A$
μL	Microlitro	L	$10^{-3}L$

Subíndices

Subíndice	Término
aC	Antes de Cristo

Superíndices

Superíndice	Término
$^{\circ}C$	Grado Centígrado
$^{\circ}R$	Registrered
TM	Trade Mark

Abreviaturas

Abreviatura	Término
<i>OMS</i>	Organización Mundial de la Salud
<i>DM</i>	Diabetes Mellitus
<i>DM1</i>	Diabetes Mellitus Tipo 1
<i>DM2</i>	Diabetes Mellitus Tipo 2
<i>ENS</i>	Encuesta Nacional de Salud
<i>HDL</i>	High-Density Lipoprotein
<i>UV</i>	Ultravioleta
<i>NIR</i>	Infrarrojo Cercano
<i>MIR</i>	Infrarrojo Mediano
<i>IR</i>	Infrarrojo
<i>QCL</i>	Láser de Cascada Cuántica
<i>PA</i>	Fotoacústica (Photoacustica)
<i>ISF</i>	Fluido Intesrticial
<i>MHz</i>	Mega Hercios
<i>mmol</i>	Miligramos Mol
<i>L</i>	Litro
<i>TCO</i>	Tomografía de Coherencia Óptica
<i>KHz</i>	Kilo Hercio
<i>Inc.</i>	Incorporation
<i>Ltd.</i>	Limitada
<i>Co.</i>	Corporation
<i>FDA</i>	Food and Drugs Administration
<i>CE</i>	Conformité Européenne
<i>USB</i>	Universal Serial Bus
<i>EGA</i>	Error Grid Analysis
<i>LCD</i>	Liquid Crystal Display
<i>MARD</i>	Mean Absolute Relative Difference
<i>I+D</i>	Innovacion + Desarrollo
<i>CGM</i>	Continuous Glucose Monitoring
<i>USA</i>	United States of America
<i>PBS</i>	Physiological Buffer Solution
<i>MCT</i>	Mercurio teluro de cadmio
<i>FT</i>	Transformada de Fourier
<i>OGT</i>	Oral Glucose Test
<i>DGA</i>	Muestra de Agua
<i>PSM</i>	Muestra de Plasma
<i>SNG</i>	Muestra de Sangre
<i>DI</i>	Derivada I
<i>DII</i>	Derivada II
<i>SNV</i>	Variable Normal Estándar
<i>FM</i>	Factor de Merito
<i>IM</i>	Información Mutua
<i>RLS</i>	Regresión lineal simple

<i>PLSR</i>	Regresión de mínimos cuadrados
<i>PCR</i>	Regresión de componentes principales
<i>RMSECV</i>	Root Mean Square Error of Cross Validation
<i>PRIN</i>	Principales
<i>REG</i>	Regionales

1. Planteamiento del Problema

La tasa de morbilidad de la diabetes está aumentando a nivel mundial, y particularmente en los países en desarrollo. Las causas son complejas y variadas, pero la mayoría están relacionadas con el rápido aumento del sobrepeso, la obesidad y la inactividad física. En el mundo hay más de 415 millones de personas con diabetes y se calcula que en 2012 fallecieron 1,5 millones de personas como consecuencia del exceso de azúcar en la sangre en ayunas, de acuerdo con las proyecciones de la OMS, la diabetes para el 2030 será la séptima causa a nivel mundial de mortalidad y para el 2040 serán 642 millones de personas padeciendo dicha enfermedad.

2. Justificación

Actualmente se calcula que en el mundo hay más de 347 millones de personas con diabetes, se estima que el 8,3% de los adultos en 2011 tenían diabetes y para el 2040 uno de cada diez tendrá diabetes. Alrededor del 80% vive en países de ingresos medios y bajos. Si su desarrollo se mantiene así se calcula que para el 2030 alrededor de 552 millones de personas, esto equivale a que aproximadamente se van a presentar tres nuevos casos cada 10 segundos, o casi 10 millones al año y la diabetes será la séptima causa de muerte para ese mismo año. Los mayores aumentos se producirán en las regiones dominadas por las economías en desarrollo.

La diabetes tipo 1, aunque es menos frecuente que la diabetes tipo 2 continua en aumento año tras año, tanto en los países desarrollados como en los no desarrollados. En la mayoría de los países desarrollados, la mayor parte de las personas con diabetes de los grupos de edad más jóvenes tiene diabetes tipo 1. Por el contrario la diabetes tipo 2 representa alrededor del 85 al 95% del total de casos de diabetes en países desarrollados y se presume que podría ser responsable de un porcentaje aún mayor en países poco desarrollados.

La diabetes se puede prevenir con un estilo de vida sana: Alimentación saludable, actividad física; sin embargo debemos tener en cuenta los casos de diabetes tipo 2 en niños, poco conocidos y que hoy en día van en aumento, en algunos de los países representa casi la mitad de los nuevos casos diagnosticados.

Siendo una enfermedad de impacto mundial demanda un método que ayude a reducir el traumatismo que produce su tratamiento.

3. Objetivos

3.1 Principal

Realizar una revisión general del estado del arte de los dispositivos no invasivos capaces de obtener los niveles de glucosa en sangre más actuales.

3.2 Específicos

3.2.1 Comprender conceptos básicos sobre la Diabetes.

3.2.2 Investigar los factores y las estadísticas de la Diabetes a nivel Mundial y Nacional, y determinar las dificultades con las que tienen que convivir los pacientes que padecen esta enfermedad.

3.2.3 Reconocer la utilidad de la Espectrofotometría en la medición de los niveles de glucosa en sangre, para determinar si es una opción más viable que la punción para los pacientes.

4. Marco Teórico

La diabetes mellitus DM, abarca un grupo completo de enfermedades sistémicas, crónicas, variables de predisposición hereditaria y la participación de diversos factores ambientales que afectan al metabolismo de los hidratos de carbono, las proteínas y las grasas que se asocian fisiopatológicamente con una deficiencia en la producción y/o en la acción de la insulina. Los defectos en la correcta producción de insulina traen como consecuencia una elevación anormal de la glucemia después de cargas estándar de glucosa, incluso en ayunas conforme existe mayor descompensación de la secreción de insulina.

4.1 Clasificación de la Diabetes

Existen numerosas clasificaciones, siendo la más aceptada la formulada por el Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus (Comité Experto de Diagnóstico y Clasificación de la Diabetes Mellitus) emitida en 1997, que la divide en dos tipos principales, sin considerar la edad de inicio: diabetes mellitus tipo 1 (DM1) y diabetes mellitus tipo 2 (DM2); en este último se incluye a más de 90% de todos los diabéticos.

4.1.1 Diabetes Mellitus Tipo 1 – DM1

La diabetes tipo 1 se produce cuando el sistema inmunológico del cuerpo destruye las células productoras de insulina del páncreas, llamadas células beta.

Normalmente, el sistema inmunológico del cuerpo lucha contra los invasores extraños como virus o bacterias. Pero por razones desconocidas, en personas con diabetes tipo 1, el sistema inmune ataca varias células en el cuerpo. Esto resulta en una deficiencia completa de la hormona insulina.

Normalmente, la hormona insulina es secretada por el páncreas en cantidades bajas. Cuando se ingiere una comida, el azúcar (glucosa) de los alimentos estimula el páncreas para liberar insulina. La cantidad liberada es proporcional a la cantidad que se requiere por el tamaño de esa comida particular. El papel principal de la insulina es ayudar a mover ciertos nutrientes - especialmente el azúcar - en las células de los tejidos del cuerpo. Las células utilizan azúcares y otros nutrientes de las comidas como una fuente de energía para funcionar. La cantidad de azúcar en la sangre disminuye una vez que

entra en las células. La destrucción de las células beta que se produce con la diabetes tipo 1 lanza todo el proceso en desorden.

En las personas que padecen diabetes tipo 1, el azúcar no se mueve en las células, porque la insulina no está disponible. Cuando el azúcar se acumula en la sangre en lugar de entrar en las células, las células del cuerpo se mueren de hambre por los nutrientes y otros sistemas en el cuerpo deben proporcionar energía para muchas funciones corporales importantes.

4.1.2 Diabetes Mellitus Tipo 2 – DM2

La diabetes tipo 2, insulino-dependiente, es la forma más común de diabetes, que afecta al 10% de la población Colombiana entre 20 y 79 años de edad.

A diferencia de las personas con diabetes tipo 1, en la diabetes tipo 2 si se produce insulina, ya sea su páncreas no produce suficiente insulina o el cuerpo no puede utilizar la insulina de forma eficiente (resistencia a la insulina). Cuando no hay suficiente insulina o la insulina no se utiliza como debe ser, la glucosa (azúcar) no puede entrar en las células del cuerpo. Cuando la glucosa se acumula en la sangre en lugar de entrar en las células, las células del cuerpo no pueden funcionar correctamente. Otros problemas asociados con la acumulación de glucosa en la sangre incluyen:

- El daño al cuerpo: Con el tiempo, los altos niveles de glucosa en la sangre pueden dañar los nervios y los vasos sanguíneos pequeños de los ojos, los riñones y el corazón y conducir a la aterosclerosis, o endurecimiento de las arterias que pueden causar un ataque cardíaco y accidente cerebrovascular.
- La deshidratación: La acumulación de azúcar en la sangre puede causar un aumento de la micción, causando la deshidratación.
- El coma diabético: Cuando una persona con diabetes tipo 2 se pone muy enfermo o gravemente deshidratado y no es capaz de beber suficientes líquidos para compensar las pérdidas de líquidos, pueden desarrollar esta complicación potencialmente mortal.

DM2 en Niños

Cada vez más niños están siendo diagnosticados con diabetes tipo 2. Si su hijo está en riesgo de diabetes infantil, es importante aprender consejos específicos de auto cuidado para prevenir la diabetes.

¿Quién padece diabetes tipo 2?

Cualquier persona puede contraer la diabetes tipo 2. Pero los que están en mayor riesgo de la enfermedad son aquellos que:

- Tiene más de 45
- Es obeso o con sobrepeso
- Han tenido diabetes Gestacional
- Tener miembros de la familia que tienen diabetes tipo 2
- Tener prediabetes
- No haga ejercicio
- Tener el colesterol HDL bajo o triglicéridos altos
- Tiene presión arterial alta
- ¿Los miembros de ciertos grupos raciales o étnicos:
 - Los afroamericanos
 - Latinos
 - Nativos americanos
 - Americanos asiáticos / isleños del Pacífico

4.1.3 Diabetes Gestacional

La diabetes gestacional es una condición caracterizada por niveles altos de azúcar (glucosa) que se reconoce por primera vez durante el embarazo. La afección ocurre en aproximadamente el 4% de todos los embarazos.

4.1.3.1 ¿Qué causa la diabetes gestacional en el embarazo?

Casi todas las mujeres tienen algún grado de intolerancia a la glucosa alterada como resultado de cambios hormonales que ocurren durante el embarazo. Eso significa que su nivel de azúcar en la sangre puede ser más alto de lo normal, pero no lo suficientemente alto como para tener diabetes. Durante la última parte del embarazo (tercer trimestre), estos cambios hormonales colocan a la mujer embarazada en riesgo de diabetes gestacional. Durante el embarazo, el aumento de los niveles de ciertas hormonas producidas en la placenta (el órgano que conecta al bebé por el cordón umbilical al útero) ayudan al feto en desarrollo, las hormonas son producidas por la placenta para ayudar a prevenir la madre de desarrollar hipoglucemia (ellos trabajan por resistencia a las acciones de la insulina). En el transcurso del embarazo, estas hormonas conducen a la progresiva intolerancia de la glucosa alterada lo que conlleva a tener niveles de azúcar en sangre más altos. Para tratar de disminuir los niveles de azúcar en la sangre, el cuerpo produce más insulina para que la glucosa en las células pueda ser utilizada como energía. Por lo general, el páncreas de la madre es capaz de producir más insulina (aproximadamente tres veces la cantidad normal) para superar el efecto de las hormonas del embarazo en los niveles de azúcar en la sangre. Sin embargo, el páncreas no puede

producir suficiente insulina, los niveles de azúcar en la sangre subirán, lo que resulta en la diabetes gestacional.

5. Estado del Arte

La diabetes mellitus DM es una enfermedad crónica no transmisible que constituye un importante problema Sanitario Mundial. El comportamiento de la morbimortalidad ha logrado encender las alarmas de las autoridades sanitarias colombianas. De acuerdo a datos de la Encuesta Nacional de Salud 2007 (ENS 2007), su prevalencia en Colombia en la población entre 18 a 69 años era de 3,5%, para el año 2010, murieron en Colombia 6.859 personas por esta causa, cifra que representó el 3,4% del total de muertes en el país ubicando a esta enfermedad como una de las primeras diez causas de muerte en el país. La mortalidad por esta enfermedad es mayor en la zona central del país.

Finalmente, de acuerdo a la información de la Cuenta de Alto Costo para el año 2012, el número de casos de diabetes en Colombia era de dos millones de personas, con proyecciones al alza para los próximos años, al igual que en el mundo.

La diabetes mellitus era conocida desde antes de la era cristiana. En el manuscrito descubierto por Ebers en Egipto, correspondiente al siglo XV antes de Cristo, se describen síntomas que parecen corresponder a la diabetes. Escrito en el año 1500_{aC}, es el texto médico más antiguo que se conoce hasta ahora. En dicho libro, se describen varios remedios para combatir la excreta exagerada de orina.

Ayur Veda, observó y anotó que las hormigas negras y las moscas, eran atraídos por la orina de las personas con cierto tipo de enfermedades con emaciación corporal. Veda refirió que la orina tenía un sabor dulce. En el año 1000_{aC}. Susruta, conocido como el padre de la medicina en la India, diagnostica "Diabetes Mellitus". Areteo de Capadocia en el siglo II de la era cristiana, le dio a esta afección el nombre de Diabetes, que significa en griego sifón, que se refiere a la eliminación exagerada de agua por el riñón, con lo cual quería expresar que el agua entraba y salía del organismo del diabético sin fijarse en él.

En el siglo II Galeno también se refirió a la diabetes. En los siglos posteriores no se encuentran en los escritos médicos referencias a esta enfermedad hasta que, en el siglo XI, Avicena habla con clara precisión de esta afección en su famoso Canon de la Medicina.

Tomás Willis en 1679, hizo una descripción magistral de la diabetes, quedando desde entonces reconocida por su sintomatología como enfermedad clínica. Fue él quien, refiriéndose al sabor dulce de la orina, le dio el nombre de diabetes mellitus (sabor a miel).

En 1921, Banting y Best descubren un extracto pancreático que disminuye los niveles de glucosa en sangre de perros pancreatectomizados. En 1923, Banting y Macleod reciben un premio Nobel al descubrir la insulina. En 1950 hasta 1980, se desarrolla la insulina "humana" por medio de ingeniería genética.

En 1965, la compañía Ames, división de la Corporación de Laboratorios Miles, actualmente conocida como Bayer, desarrolla e introduce al mercado un producto llamado Dextrostix. El producto inventado por Ernie Adams en 1963, estaba destinado a las clínicas extra hospitalarias y eran tiras reactivas de papel, a las cuales se le agregaba una gota de sangre capilar, dejando que la sangre estuviera en contacto con la tira durante un minuto, y posteriormente se lavaba con agua. Desarrollaron un color azul, con el cual podían comparar el mismo a una escala colorimétrica. Esto proporcionaba un valor aproximado de los niveles de glucosa en sangre. Las personas experimentadas daban lecturas entre un intervalo aceptable. Para aquellos que no tenían experiencia con el producto, la interpretación de los valores del mismo estaba sujeta a un margen de error considerable por parte del lector. El producto se consideró como un análisis semi-cuantitativo, ya que dependiendo de la intensidad de luz, el mismo color podía lucir diferente, dando un margen de error considerable. En 1968, Roche introduce al mercado el Haemo-Glukotest con características similares.

En 1970, ante los problemas detectados con el uso del Dextrostix, el científico Anton Huber Clemens, desarrolla un reflectómetro para la medición de glucosa. Dicho aparato proporcionaba una lectura basada en la cantidad de luz reflejada en las tiras de Dextrostix, luego de dirigir un haz de luz sobre el color azul de la tira. A mayor oscuridad en la tira, o un color azul oscuro, menor cantidad de luz se reflejaba de la misma. Dicho haz de luz era dirigido a una celda fotoeléctrica, la cual proporcionaba una lectura dada por una aguja que giraba sobre una escala de medición. Esto otorgó una mayor precisión a la lectura del Dextrostix al disminuir el error humano.

En 1775 Dopson identificó la presencia de glucosa en la orina con métodos de laboratorio. La primera observación necrótica en un diabético fue realizada por Cawley y publicada en el "London Medical Journal" en 1788. Casi en la misma época el inglés Rollo consiguió mejorías notables con un régimen rico en proteínas y grasas y limitado en hidratos de carbono. Los primeros trabajos experimentales relacionados con el metabolismo de los glúcidos fueron realizados por Claude Bernard quien descubrió, en 1848, el glucógeno hepático y provocó la aparición de glucosa en la orina excitando los centros bulbares mediante pinchaduras. En 1798, el científico John Rollo, certifica el exceso de azúcar en la sangre, con base en su certificación se generan ciertos avances en los laboratorios en cuanto a la determinación de glucemia en la sangre.

En la segunda mitad del siglo XIX el gran clínico francés Bouchardat señaló la importancia de la obesidad y de la vida sedentaria en el origen de la diabetes y marcó las normas para el tratamiento dietético, basándolo en la restricción de los glúcidos y en el bajo valor calórico de la dieta.

Los trabajos clínicos y anatomopatológicos adquirieron gran importancia a fines del siglo pasado, en manos de Frerichs, Cantani, Naunyn, Lanceraux, etc. y culminaron con las experiencias de pancreatometomía en el perro, realizadas por Mering y Minkowski en 1889.

La búsqueda de la presunta hormona producida por las células descritas en el páncreas, en 1869, por Langerhans, se inició de inmediato. Hedon, Gley, Laguesse y Sabolev estuvieron muy cerca del ansiado triunfo, pero éste correspondió, en 1921, a los jóvenes canadienses Banting y Best, quienes consiguieron aislar la insulina y demostrar su efecto hipoglucemiante. Este descubrimiento significó una de las más grandes conquistas médicas del siglo actual, porque transformó el porvenir y la vida de los diabéticos y abrió amplios horizontes en el campo experimental y biológico para el estudio de la diabetes y del metabolismo de los glúcidos.

5.1 Avances

El mercado comercial de los medidores de glucosa en sangre es bastante sustancial, costando alrededor de \$6.1 billones de dólares, es dominado principalmente por Roche, Bayer, Abbott, Medtronic y LifeScan representado el 85% del mercado total de biosensores. Casi todos los medidores de glucosa (Glucómetros) emplean un biosensor químico que responde rápidamente a la detección de glucosa y puede ser producido en masa: Método ya conocido que usa la lanceta para pinchar el dedo del paciente para tomar la muestra de sangre, que como ya lo hemos mencionado anteriormente resulta bastante doloroso.

Con en el transcurrir de los años el avance de la Tecnología se ha hecho mucho más notorio, no hay área en la que el hombre no esté imponiendo su ritmo buscando respuesta a sus interrogantes, o en este caso la búsqueda de un método de prevención en pro de la salud humana.

Hay varios grupos de investigación y empresas que desde la década de los 80's han venido desarrollando técnicas no invasivas para la detección de los niveles de glucosa en sangre para pacientes con diabetes tipo I y II, de esta forma han incursionado en el mercado una serie de glucómetros no invasivos que usan fluidos diferentes a la sangre que corre por nuestras venas: fluido intersticial (que baña a las células de cualquier tejido), el humor acuoso, la sangre de los capilares cercanos a la superficie de la piel o las lágrimas. Los valores obtenidos deben ser correlacionados con valores de modelos específicos de glucosa en plasma. Dichas técnicas tienen como base:

- La glucosa puede provocar alteraciones en las propiedades del tejido que la posee y también puede responder a ciertos estímulos, por ejemplo la absorción de un rayo de luz incidente.
- La capacidad natural del cuerpo humano de emitir radiación electromagnética en la región del infrarrojo donde la temperatura corporal se determina en función de las variaciones en la intensidad global de dicha radiación.

Cabe resaltar que en las últimas décadas ha habido desarrollos asombrosos minimizando el dolor causado en el paciente por las lancetas como por ejemplo los biosensores subcutáneos. Actualmente, la técnica más aceptada científicamente es la espectrofotometría, además de ser no invasiva también es indolora, similar a la medición de la Saturación de Oxígeno en sangre (SaO_2) por medio de la pinza.

5.1.1 Técnicas no Invasivas Usadas para la Medición de Glucosa

La espectroscopia es un hallazgo producto del estudio de la interacción entre la radiación y la materia como función de la longitud de onda (λ). Inicialmente se refería al uso de la luz visible dispersada según su longitud de onda, por ejemplo por un prisma. Luego su concepto se amplió enormemente para comprender cualquier medida en función de la longitud de onda o de la frecuencia. La espectroscopia se refiere a los métodos, cuantitativos, de análisis químico que utilizan la luz para medir la concentración de las sustancias químicas. Se conocen como métodos espectrofotométricos y según sea la radiación utilizada como espectrofotometría de absorción visible (colorimetría), ultravioleta, infrarroja.

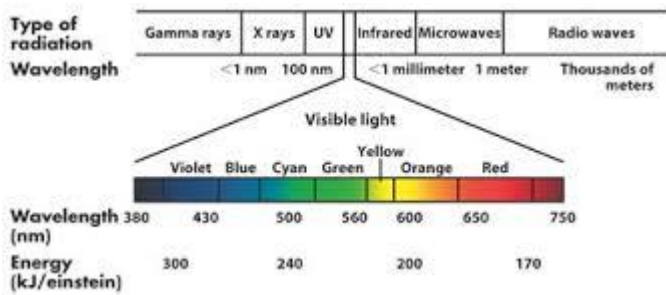
El instrumento que realiza tales medidas es un espectrómetro o espectrógrafo y sus usos están incluidos dentro de la Física, la Química analítica, la Farmacéutica, la Medicina, la Astronomía y la Detección remota.

Espectroscopia de Absorbancia

Una vez concentramos la luz en los tejidos biológicos ella se refleja, se dispersa y se transmite según la composición estructural y química de la muestra. Por la tanto, la mayoría de los enfoques en la medición de glucosa no invasiva están dirigidos a determinar la firma óptica de la glucosa, que puede proporcionar su diferenciación molecular. La espectroscopia de infrarrojo cercano (Near-Infrared) y la espectroscopia de infrarrojo medio (Mid-Infrared) son las técnicas no invasivas más usadas.

■ Espectroscopia de Infrarrojo

Fig. 5 -1: Tipo de Longitud de Onda de la Radiación



La Espectroscopia de Infrarrojo es una técnica que ha sido estudiada con el fin de determinar las regiones del espectro y la longitud de onda que mejor interactúan con la molécula de Glucosa, lo que nos lleva a coincidir con la utilización de la luz infrarroja. Podemos encontrar estudios que utilizan grupos de longitudes de onda contiguas en la región cercana del espectro infrarrojo y otros estudios han seleccionado longitudes en la región media del espectro infrarrojo. Estos estudios utilizan diversas técnicas de procesamiento con el fin de mejorar los errores de predicción y finalmente su aplicación clínica.

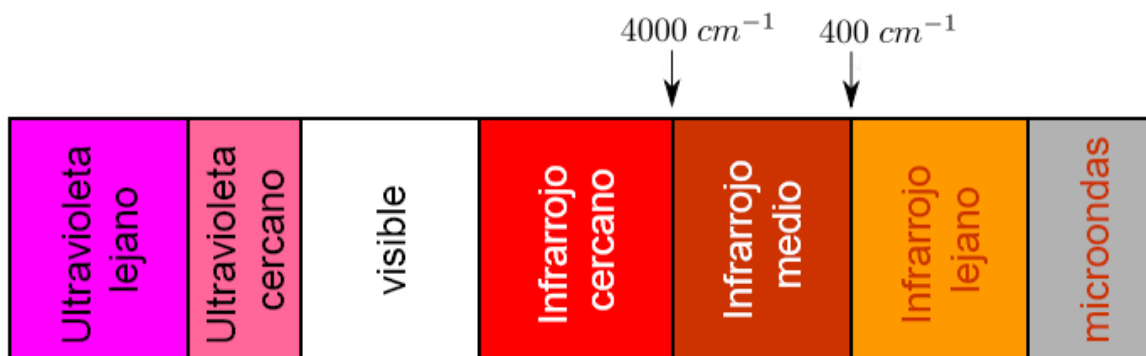
La Espectroscopia de Infrarrojo es una técnica que ha sido estudiada con el fin de determinar las regiones del espectro y la longitud de onda que mejor interactúan con la molécula de Glucosa, lo que nos lleva a coincidir con la utilización de la luz infrarroja. Podemos encontrar estudios que utilizan grupos de longitudes de onda contiguas en la

Los rayos infrarrojos se descubrieron en 1800 por William Herschel, un astrónomo inglés de origen alemán quien colocó un termómetro de mercurio en el espectro que se obtuvo por un prisma de cristal, él quería medir el calor emitido por cada color pero descubrió que el calor era más fuerte al lado del rojo del espectro y observó que era allí donde no había luz. Esta fue la primera experiencia que mostró que el calor puede transmitirse por una forma invisible de luz. Herschel llamó a esta radiación *rayos calóricos*, nombre que se volvió bastante popular a lo largo del siglo XIX y que dio a la radiación infrarroja moderna sus bases de hoy en día. Los bolómetros fueron los primeros encargados en detectar la radiación infrarroja, sus detectores captaban el aumento de la temperatura que se producía por medio de la radiación.

Se cree que la espectroscopia infrarroja tiene más 125 años de existencia. El primer espectro de vibraciones moleculares data en 1881 donde Abney y Festing por medio de la preparación de emulsiones fotográficas sensibles al infrarrojo cercano fotografiaron el espectro de absorción de 48 líquidos orgánicos observando bandas características en estos espectros asociándolas con la presencia de hidrógeno en las moléculas estudiadas. Un año después, en 1892, Julius encontró el espectro infrarrojo de 20 compuestos orgánicos, donde concluyó que todos los compuestos que contienen metilo (CH₃) exhiben una banda de absorción de 3.45 μm y que la absorción de *ondas caloríficas* se produce por los movimientos intramoleculares, es decir, la estructura interna de la molécula determina el tipo de absorción y no se puede predecir el espectro de absorción de un compuesto a partir del conocimiento de los espectros de los átomos constituyentes.

Si hablamos del infrarrojo en el espectro electromagnético podemos encontrar tres regiones; el infrarrojo cercano, medio y lejano, nombrados por su relación con el espectro visible. El infrarrojo lejano ($400\text{-}10\text{ cm}^{-1}$) se encuentra adyacente a la región de microondas, es de baja energía y puede ser usado en espectroscopia rotacional. El

Fig. 5-2: Longitud de Onda de Espectro NIR y MIR



infrarrojo medio ($4000\text{-}400\text{ cm}^{-1}$) se usa para estudiar las vibraciones fundamentales y la estructura rotacional vibracional y el infrarrojo cercano ($14000\text{-}4000\text{ cm}^{-1}$) puede excitar sobre tonos o vibraciones armónicas.

Los primeros espectroscopios comerciales aparecieron a mediados del siglo XX, su desarrollo se impulsó durante la Segunda Guerra Mundial, donde se utilizó para la síntesis de caucho sintético controlando el nivel de la concentración y pureza del butadieno empleado en la síntesis del polímero. En la última década del siglo XX aparecieron en el mercado los espectrómetros de transformada de Fourier, método que amplía esta técnica.

La Espectroscopia de Infrarrojo cercano (NIR) en Medicina es la radiación en forma de ondas ($750\text{ - }2600\text{ nm}$) que emite un material biológico al ser expuesto a un haz de luz, después de un análisis y se pueden obtener datos tales como: Tamaño, distribución, composición química, entre otros. También encontramos diversas aplicaciones: detección de tumores, índices de oxigenación, niveles de vascularización y permite el monitoreo de procesos fisiológicos y fisiopatológicos en tiempo real. La espectroscopia MIR posee una mayor correlación que la espectroscopia NIR, ya que en esta región del IR se encuentran mayores picos de relación, sin embargo hay algunos inconvenientes debido a la interferencia que generan moléculas de agua y hemoglobina, dichas moléculas poseen un coeficiente de absorción mayor que la glucosa, produciendo que la cantidad de energía absorbida por esta sea muy pequeña y a su vez la región del espectro electromagnético afectado por las moléculas de glucosa también resulta pequeño y muy poco perceptible por los equipos de medición

Los primeros espectroscopios comerciales aparecieron a mediados del siglo XX, su desarrollo se impulsó durante la Segunda Guerra Mundial, donde se utilizó para la síntesis de caucho sintético controlando el nivel de la concentración y pureza del

butadieno empleado en la síntesis del polímero. En la última década del siglo XX aparecieron en el mercado los espectrómetros de transformada de Fourier, método que amplía esta técnica.

- Espectroscopia de Infrarrojo Cercano

Esta técnica usa una muestra de luz con una longitud de onda en el rango de 750-2500nm centrada en el cuerpo y enfocada en calcular la concentración de glucosa en los tejidos (1-100mm de profundidad) midiendo la variación en la transmisión causada por la transmisión y la reflectancia en el tejido. Los cambios en la concentración de la glucosa afectan los coeficientes de absorción y dispersión del tejido. En la banda NIR, el coeficiente de absorción de la glucosa es bajo, más que el del agua debido a la diferencia de concentraciones. El coeficiente de absorción y la concentración en esta región son tales que la señal de la glucosa constituye solo 1 de 100000, la mayor contribución debida al agua. El cambio en la señal del agua con tan solo 2°C es equivalente al cambio total de señal para la glucosa en el rango clínicamente relevante. Por lo tanto en el NIR, el más fuerte de espectro del agua, hemoglobina, proteínas y grasas solapan las débiles bandas del espectro de la glucosa. Esta técnica ha sido utilizada para determinar los niveles de glucosa en el lóbulo de la oreja, la huella del dedo, la cutícula del dedo, la piel del antebrazo, la mucosa del labio, la mucosa oral, la lengua, el septum nasal, la mejilla y el brazo. Las medidas obtenidas del dedo en el NIR son correlacionadas con la glucosa en sangre pero no son clínicamente aceptadas ya que no son lo suficientemente exactas. Sin embargo, las mediciones del labio interior tienen una buena correlación con un desfase de tiempo de unos cuantos minutos.

- Espectroscopia de Infrarrojo Medio

La espectroscopia MIR emplea luz en el rango espectral de 2500-10000nm. Está basada en el mismo principio físico de la espectroscopia NIR reduciendo la dispersión y aumentando la absorción debido a que sus longitudes de onda son más altas. Las bandas espectrales MIR producidas por la glucosa son más agudas que las bandas producidas en NIR aunque sufren de los mismos problemas adicionando su poca penetración, la luz solo penetra unos cuantos micrómetros dentro de la piel. Por lo tanto la reflexión total atenuada, basada en una muestra de luz guiada a través de un cristal por reflexión total es usada para incrementar la penetración de la luz. Las mediciones de la glucosa se logran colocando el cristal en contacto con la piel usando aceite de escualeno donde el campo electromagnético es creado por las medidas de luz reflejadas en el fluido intersticial de la dermis.

Espectroscopia de Bioimpedancia

Esta técnica está basada en la medición de la impedancia de un tejido usando corrientes alternas de intensidades conocidas. El espectro de una impedancia es medida en diferentes longitudes de onda y en el rango de frecuencia de 100 Hz–100 MHz. Los cambios de la concentración de glucosa de plasma se ven reflejados en el cambio del potencial de membrana de los glóbulos rojos por la variación de la concentración de iones de Na⁺ and K⁺. Entonces los cambios del potencial de membrana de los glóbulos rojos son determinados por el espectro de la impedancia.

Espectroscopia de Emisión Térmica

Esta es una técnica similar a la usada en los termómetros de la membrana timpánica donde se miden las señales de infrarrojo que se generan naturalmente en el cuerpo humano debido a los cambios de la concentración de glucosa, la diferencia en el caso de la monitorización de glucosa son las longitudes de onda específicas (9.8 μm and 10.9 μm), esta puede determinar la concentración de glucosa del antebrazo, el dedo o el oído. La glucosa tiene efectos absorbibles en la radiación de infrarrojo que están relacionados directamente con su concentración. La membrana timpánica es ideal para el monitoreo de la glucosa donde las señales generadas de los vasos sanguíneos deben cruzar una menor trayectoria, además ha mostrado buenos resultados en la detección de las concentraciones de glucosa pero la temperatura y los movimientos naturales del cuerpo interfieren de gran manera.

Espectroscopia Ocular

Esta técnica mide la concentración de glucosa en las lágrimas empleando unos lentes de contacto hechos de hidrogel, una capa de 7 μm de grosor derivada del Ácido Bórico es tomada como base para unirse al lente de contacto, donde los derivados de ácido bórico forman enlaces covalentes reversibles con la glucosa que hay en las lágrimas. Los lentes son iluminados por una fuente de luz, la longitud de onda sufre un cambio que está relacionado con la concentración de glucosa en las lágrimas, este cambio es detectado por un espectrómetro.

Espectroscopia Raman

La espectroscopia Raman mide la luz dispersa que tiene una longitud de onda mayor y una intensidad menor que la luz original, lo hace en muestras transparentes y tiene como fuente la radiación de un láser en el rango de visible del MIR. El agua no interfiere en el espectro Raman gracias a sus débiles índices de dispersión. La separación de señales es simple ya que los espectros Raman son estrechos y tienen picos distintos, sin embargo requieren largos tiempos de adquisición espectrales, la inestabilidad la intensidad del láser y de la longitud de onda son otra limitación. Una fibra óptica fue

usada para enfocar el haz de 785nm de la cámara anterior del ojo de un cerdo, las señales Raman en el rango MIR fueron detectadas en el humor acuoso.

Espectroscopia Foto acústica

Está basada en la interacción del haz de un láser proyectado con las células del tejido que genera calor y variaciones de presión de la muestra, es decir, señales acústicas que pueden ser monitorizadas por un transductor piezoeléctrico. La detección selectiva de la glucosa en sangre puede realizarse usando longitudes de ondas específicas del haz de un láser incidente.

Fluorescencia

Esta técnica emplea la excitación de los tejidos usando luz ultravioleta en frecuencias específicas, seguidas de la detección de fluorescencia en una longitud de onda particular. Basados en la fluorescencia que hay presente de la glucosa en las lágrimas se ha realizado la detección de la misma usando matrices coloidales cristalinas polimerizadas, estas matrices responden a diferentes concentraciones de glucosa a través de la difracción de la luz visible. Las últimas investigaciones están enfocadas hacia el uso de los lentes de contacto de color capaces de cambiar su tonalidad en respuesta a la concentración de glucosa obviando el uso de dispositivos de excitación y de detección para que la señal pueda ser detectada visualmente comparando el cambio de color con una tira de color previamente calibrado.

Reflectancia Localizada con Temperatura regulada

Esta técnica analiza la modulación de la temperatura del reflejo de una luz localizada debido a su dispersión. La concentración de glucosa en la dermis se estima por las mediciones de la piel en el antebrazo. Las variaciones en la temperatura causan algunos cambios en el índice de refracción de los tejidos que afectan la dispersión de la luz dependiendo de la concentración de glucosa, que es estimada con señales de reflectancia localizadas en 590 nm y 935 nm. En algunos reportes una sonda se colocó en contacto con la piel y la temperatura se varió de 22 °C y 38.8 °C, la piel fue estabilizada por algunos minutos después de cada variación y algunos paquetes de luz relacionados con la concentración de glucosa fueron recolectados, sin embargo, muchos parámetros fisiológicos, la posición de la sonda y condiciones de salud con fiebre pueden afectar la medición de glucosa.

Polarimetría

Durante mucho tiempo el extenso uso de esta técnica en las industrias ha servido para cuantificar el nivel de compuestos tales como la glucosa es la principal razón para

emplearla en el monitoreo no invasivo. Se basa en la rotación del vector de polarización lineal de la luz por el espesor, temperatura y concentraciones de la muestra. Cuando la luz es atravesada por una solución que contiene solutos ópticamente activos como la glucosa, sin embargo, los altos coeficientes de dispersión de la piel causan una completa despolarización del haz. Por lo tanto, el humor acuoso del ojo que tiene un medio óptico claro con una longitud de trayectoria apropiado es ideal para el monitoreo no invasivo de la glucosa. La cámara anterior del ojo humano con un promedio de ancho de 1 cm da 4562 milígrados de rotación para 5.55 mmol/L de glucosa en la longitud de onda de 633 nm.

Los estudios de polarimetría en el ojo tienen dos opciones:

- Donde pasan lateralmente a través de la cornea
- El haz incidente en la córnea viajando en el globo ocular se refleja por la retina y regresa con información relativa a la concentración de glucosa en el humor acuoso

El procedimiento para las mediciones de glucosa in vivo dentro del ojo humano también se propuso usando lentes intraoculares modificados y un modulador de polarización de cristal líquido impulsado por una señal sinusoidal.

Tomografía de Coherencia Óptica

La Tomografía de Coherencia Óptica (TCO) es similar a la técnica de dispersión de luz (Reflectancia Localizada) ya que explota la dispersión de la luz. Sin embargo, se basa en el retraso de la luz retro-dispersada en comparación con la luz reflejada por el espejo brazo de referencia, a diferencia de la técnica de dispersión de luz emplea la intensidad de la luz recolectada. La concentración de glucosa determinada por la (TCO) sobre la base de los coeficientes de dispersión fueron similares a los medidos mediante la técnica de dispersión de la luz, pero tiene limitaciones ya que es sensible a los artefactos en movimiento y los cambios de temperatura en la piel. Ha sido empleada para medir la concentración de glucosa en el fluido intersticial de la dermis superior de la piel del antebrazo.

Una luz de baja coherencia, un interferómetro con una referencia y la muestra de un brazo referencia, un espejo en movimiento en el brazo y un foto-detector para medir la señal interferométrica. El foto-detector determina la señal interferométrica obtenida por una combinación de la luz retro dispersada del tejido en la muestra del brazo y la luz reflejada en el brazo de referencia del interferómetro.

Conformación de Calor Metabólico

Se trata de mediciones de generación térmica, tasa del flujo de sangre, concentraciones de hemoglobina y oxihemoglobina, lo que corresponde a los niveles de glucosa en sangre. Es usada como una técnica auxiliar para la cuantificación de glucosa ya que

tiene una fuerte probabilidad de interferir con las condiciones ambientales. Los estudios iniciales. Las pruebas iniciales miden la temperatura en la punta del dedo, medio ambiente, y la radiación de segundo plano. La espectroscopia de múltiples longitudes de onda en varias longitudes de onda (470 nm, 535 nm, 660 nm, 810 nm, 880 nm, y 950 nm) fue usada para mejorar las condiciones de la glucosa. Hitachi está trabajando en mejorar el rendimiento de un prototipo para un sensor de glucosa desarrollando esta técnica.

Ultrasonido

También conocida como Iontoforesis, esta técnica emplea un piezoeléctrico transductor para crear un ultrasonido de 20 KHz que incrementa la permitividad de la piel al fluido intersticial y transporta la glucosa a la epidermis, donde esta es medida por un sensor electroquímico convencional. Los experimentos in-vivo realizados en ratones determinan la concentración de glucosa en el fluido intersticial, esta técnica ha sido considerada mínimamente invasiva ya que crea micro poros en la piel para poder extraer la glucosa contenida en dicho líquido.

Detección Electromagnética

Los cambios de la concentración de glucosa en sangre se ven reflejados en el cambio de sus parámetros dieléctricos y basados en la corriente de Eddy pueden ser detectados usando sensores electromagnéticos. La detección basada en la conductividad de muestras estáticas y en movimiento de glucosa en sangre dentro de un tubo plástico sometido a una frecuencia resonante de 2.664 MHz tuvo una sensibilidad de 4.4mmol/L.

Iontoforesis Reversa

La Iontoforesis es la aplicación de un potencial eléctrico por medio de la piel. Esta técnica ha sido utilizada para liberar droga por medio de una corriente eléctrica. La Iontoforesis Reversa transporta la glucosa desde la piel hacia el exterior, es decir, en dirección opuesta a la Iontoforesis. Se trata de la aplicación de un potencial eléctrico entre dos electrodos (un ánodo y un cátodo) que se encuentran en la superficie de la piel lo que ocasiona la migración de iones de Na⁺ y Cl⁻ desde debajo de la piel hacia el cátodo y el ánodo respectivamente, generando la corriente eléctrica. Las moléculas de glucosa sin carga presentes en el fluido intersticial son transportadas junto con los iones a través de la piel, recogidas en el cátodo, almacenadas en un contenedor especial y luego su concentración es determinada mediante la reacción de la glucosa oxidasa usando un sensor convencional. Dispositivos como el GlucoWatch® de Cygnus Inc., USA y el Glu-Call de KMH Co., Ltd., South Corea han usado ampliamente esta técnica.

5.1.2 Dispositivos No Invasivos

GlucoWatch® G2 Biographer

Es similar a un reloj de diseño pero realiza la función de medir la glucosa en sangre. La compañía americana Cygnus es la responsable de crear este medidor de glucosa no invasivo que obtuvo la aprobación de la FDA (Food and Drugs Administration – Administración de Alimentos y Drogas) en 2001. El GlucoWatch® no sustituiría a los medidores convencionales y solamente les complementaría. Se compone de: Un monitor que se lleva en la muñeca como si

Fig. 5-3: GlucoWatch® Biographer



fuera un reloj, el cual lleva una pantalla para visionar los eventos y un auto sensor, una especie de parche, (parecido a los que se utilizan para suministrar nicotina). El monitor funciona enviando una pequeña corriente eléctrica a través de la piel, mide la glucosa a través del líquido intersticial que está debajo de la piel por un proceso conocido como ionolectrofóresis o iontoforesis reversa. El monitor se debe de programar de acuerdo a cada paciente, tiene un sistema de notificaciones que hace sonar una alarma o vibra cuando detecta unos niveles de glucosa en sangre demasiado altos o bajos para los parámetros del paciente, alertas para los horarios de las comidas, ejercicios e ingesta de insulina, almacena hasta 8500 lecturas . Las mediciones se obtuvieron aplicando una corriente de $300\mu\text{A}$ entre dos electrodos poniendo en contacto la piel con la parte trasera del dispositivo lo que permite sacar el fluido intersticial en dos discos recolectores (ánodo y cátodo). Las moléculas de glucosa son extraídas a través de la epidermis y dirigidas al cátodo junto con los iones de Na^+ por electro-osmosis. El biosensor amperométrico debe detectar 50-200 pmol de glucosa así como uso de la mA extrae la glucosa en el rango de los μmol , el biosensor detecta H_2O_2 que es generado por la catalización de GOx en reacción al uso de corrientes en ηA . Para hacer la detección se tienen en cuenta la temperatura de la piel, los cambios en transpiración incluyendo termo transductores y sensores de conductividad. Posee varios problemas, no se demostró que mejorara los resultados clínicos de los pacientes, necesita un precalentamiento de 3 horas, realiza lecturas cada 20 minutos el GlucoWatch® no era un reemplazo para la monitorización de glucosa estándar y nunca fue demostrado que mejorara los resultados clínicos para los usuarios, necesita un periodo de precalentamiento de 3 horas, realiza lecturas cada 20 minutos por un periodo de 12 horas y debe de ser calibrado diariamente con un medidor de glucosa convencional teniendo presente que sus resultados no son tan exactos, es más costoso y produce varios efectos secundarios en la piel. Estudios clínicos mostraron que hace una mejor medición en episodios de hiperglicemia y no es

tan confiable cuando el paciente presente hipoglicemia. Fue sacado del mercado en Julio 31 de 2007.

Pendra®

Fig. 5-4: Pendra®



de
batería

Elaborado por Pendragon Medical Ltda., Suiza. Basado en la espectroscopia de impedancia con un diseño de reloj para muñeca fue aprobado por la CE (Conformité Européenne – Comité Europeo) en mayo del 2003 como un dispositivo adyuvante en la medición de glucosa para detectar tendencias y patrones en los niveles de la misma. Basado en la tecnología desarrollada por el grupo Caduff's, consiste en un circuito resonante abierto (1–200 MHz) que se encuentra en contacto con la piel con la ayuda de una cinta ubicada en la parte trasera del dispositivo y realiza las mediciones de impedancia, puede captar 4 mediciones por minuto con un rango de 1–4 mmol/L de glucosa por ohmio. Tiene una conexión tipo USB para transmitir los datos recolectados con cualquier computador, un software de usuario Pendra para el análisis de los datos, un software paciente-profesional para el manejo la diabetes, capacidad de almacenamiento de un mes, su batería dura 24 horas, autocorrección por cambios en la impedancia causados por el cambio de temperatura y un sistema de alertas en episodios de cambios bruscos en los niveles de azúcar; no tuvo una buena aceptación en el mercado ya que los datos obtenidos son muy variables entre los pacientes, requiere una calibración adicional en diferentes tipos de piel y tejidos subyacentes entre los pacientes al menos tres días antes de ser usado, requiere ser calibrado en el mismo lugar siempre, seguido por una hora de nivelación, el 30% de los pacientes descontinuaron su uso ya que a pesar de la calibración algunos tipos de piel no eran toleradas por el dispositivo, la cinta en la parte posterior del reloj requiere de un cambio cada 24 horas. Los estudios clínicos muestran una baja correlación, 35.1% con los glucómetros comerciales y un valor completamente diferente de la glucosa capilar del 52%, el paciente necesita descasar al menos una hora antes, sólo apto para personas determinadas cuya piel dieléctrica local tiene una frecuencia de resonancia mínima. La producción del Pendra fue detenida cuando la compañía cayó en bancarrota en 2005, sin embargo, el trabajo del grupo Caduff's en bioimpedancia fue estudiado por Solianis Monitoring AG, Zurich, Suiza. Biovotion AG, Zurich, Suiza adquirió la propiedad intelectual en octubre del 2011 y continua desarrollando el concepto de multisensor para continuar con los avances en el monitoreo no invasivo de glucosa.

GlucoTrack™

Fig. 5-5: GlucoTrack™ Es un dispositivo de mano en tiempo real desarrollado por Integrity



Applications Ltd., Israel. Emplea tres técnicas para detectar los niveles de glucosa en sangre sin invadir el cuerpo: Ultrasonido, Electromagnetismo y Capacidad Calórica. Tiene una alta precisión y certeza gracias a la combinación de varias tecnologías que minimizan el ruido de las mediciones ya que la interferencia también es mínima. El dispositivo mide los niveles de glucosa en el lóbulo de la oreja colocando en este un clip personal de oído equipado con sensores y una calibración electrónica. El lóbulo de la oreja es un sitio de fácil acceso, con abundante irrigación de sangre y que no se ve afectado por labores diarias. Requiere una calibración individual contra la basal invasiva y referencias postprandiales de glucosa en sangre antes de que se puede implementar, la calibración es válida por un mes y se mostró una alta exactitud en estudios clínicos ya que sus lecturas tienen una buena correlación con los glucómetros comerciales. Basados en la Clarke EGA el 92% de sus lecturas fueron clínicamente aceptables. Tiene una conexión tipo USB y una IR, batería recargable, alertas, soporte multiusuario, memoria interna que soporta hasta 1000 lecturas por paciente, gran pantalla LCD, software para el procesamiento y análisis, compacto y ligero. Fue lanzado al mercado a inicios del 2013, después de que se mejoró su rendimiento con una mejor calibración.

Orsense

Aprobado por la CE y producido por Orsense Ltd., Israel y que permite una glucometría no invasiva junto con la hemoglobina y saturación de oxígeno con una alta sensibilidad. Emplea espectroscopia ocular en el NIR y está basada en la detección de la señal óptica producida por la sangre dentro del NIR debido a los cambios en

Fig. 5-6: Orsense

la concentración de glucosa en sangre en los vasos sanguíneos del dedo. El cese temporal del flujo de sangre hacía el dedo en la oclusión mejora la señal roja para el NIR, de este modo

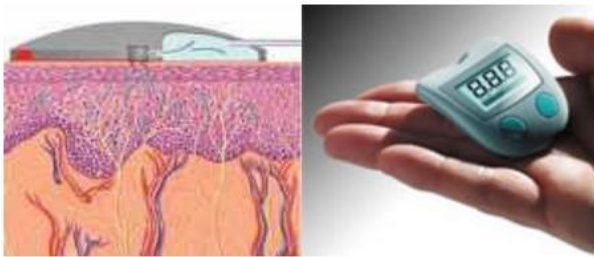


mejora la relación señal-ruido. El dispositivo es portable, fácil de usar, obtiene lecturas en menos de un minuto, tiene una memoria interna para almacenar 500 lecturas, sistema de alerta, análisis de los datos en tendencia, telemetría inalámbrica integrada, fácil sistema de lectura en la pantalla, mide la glucosa continuamente durante

24 horas, no requiere una calibración continua, no frece riesgo de contaminación, fue probado en 400 personas, permite la identificación de tendencias. Un estudio clínico que fue realizado en Centro Medico Shelba en Israel, arrojó un 95.3% dentro de la Clarke EGA donde la exactitud fue comparada con los glucómetros invasivos. Los inversionistas en el monitoreo no invasivo de glucosa de OrSense fueron Israel Health Care Ventures and STAR Ventures.

SpectRx Inc.

Fig. 5-7: SpectRx Inc.



SpectRx Inc. Norcross, Georgia, Estados Unidos ha desarrollado un glucómetro no invasivo basado en biofotónica donde se emplea un láser portátil, Altea MicroPor™, para crear microporos en el estrato corneo, es decir, la capa más externa de la piel a través de la cual el fluido intersticial sale y es recolectado por un parche externo que contiene el sensor de glucosa. El

bajo consumo de energía del láser de bajo costo tiene una característica de autorregulación que previene cualquier posible daño que pueda ser causado a los tejidos viables por debajo de la capa muerta de la piel. Sus mediciones correlacionan muy bien con los niveles de glucosa en sangre hechas por un glucómetro comercial, puede detectar la glucosa del fluido intersticial entre 60-400cm³. El dispositivo es calibrado con un glucómetro, las mediciones de glucosa en el fluido intersticial tienen un lapso de tiempo de 2 a 4 min en comparación con la de la sangre; tiene un transmisor inalámbrico y una pantalla portátil. La tecnología del glucómetro no invasivo fue apoyado por Laboratorios Abbott, el cual fundó la búsqueda y el desarrollo del SpectRx, el nombre de la compañía cambio a "Guidad Terapéuticas, Inc." en mayo del 2008 y su mayor enfoque fue la detección del pre cáncer y el cáncer cervical de forma no invasiva.

Symphony®

Symphony® es un dispositivo no invasiva desarrollado por Sontra Medical Corporation, que emplea un sensor de glucosa estándar para monitorear los niveles de glucosa transdérmicos con una gran exactitud por medio de un sistema inalámbrico simple. En Septiembre 17 de 2007 se fusionó con Echo Therapeutics, Inc., una empresa especializada en terapias transdérmicas y continuó operando bajo ese mismo nombre. La tecnología incluye la penetración de la piel con un sistema de penetración transdérmica especial llamado Prelude® SkinPrep donde un breve periodo de calentamiento seguido de la medición de glucosa cada minuto con el biosensor, los datos son transmitidos inalámbricamente al monitor que está equipado con un sistema de alertas que detectan si la glucosa se encuentra fuera de los rangos normales. El dispositivo no causa ninguna irritación a la piel. En el 2011 la compañía anunció los exitosos resultados de las pruebas clínicas que se realizaron, demostrando así su perfil clínico, ya que sus lecturas fueron correlacionadas con el analizador de glucosa comercial YSI 2300 STAT Plus. No hay reportes de enfermedad o de falta de seguridad, los resultados presentados a la prensa por la compañía en 2012 fueron muy esperanzadores, la diferencia media relativa absoluta (MARD) fue de 12.6% y en el EGA se obtuvo un 96.9% en 20 pacientes voluntarios, sin embargo, estos resultados no fueron revisados por expertos. Otro estudio interesante fue realizado en pacientes recién intervenidos con una cirugía de corazón donde se monitorearon sus niveles de glucosa usando este sistema, donde se observó que la salud de los pacientes con trauma mejora si sus niveles de glucosa se mantienen dentro de un rango estrecho.

Fig. 5-8: Symphony®



ImasD Health

ImasD Tecnología, una empresa de ingeniería valenciana, ha patentado una tecnología que ahorre a los diabéticos el incómodo pero necesario pinchazo que se usa actualmente para controlar el nivel de azúcar en sangre. Además de la glucosa, el reloj también permitirá supervisar el oxígeno o el pulso. “El primer dispositivo orientado a convertirse en un dispositivo médico”, aclara Pedro Peláez, uno de los responsables de la compañía. “En principio queríamos crear un sistema para monitorizar enfermos de Alzheimer o con cardiopatías pero acabamos yendo más allá”, recuerda Peláez, “Los sensores para cardio ya estaban bastante probados y

Fig. 5-9: ImasD Health



desarrollados pero vimos que en el caso de la glucosa había una oportunidad, ya que a pesar de que se había intentado no se logró todo”, confiesa el ingeniero. El sistema calienta la piel del usuario para abrir los poros de manera “casi imperceptible” y se deja caer dentro una micro gota que posteriormente se recupera y proporciona los datos. “Es una tecnología similar a la que se utiliza en los cabezales de las impresoras. De la misma manera que un cartucho puede disponer la tinta sobre el papel, también se puede hacer sobre la piel”. El reloj cuenta con un consumible que se tiene que cambiar cada siete días, a razón de cuatro o cinco mediciones al día. La información se podrá consultar desde un teléfono inteligente pero es completamente autónomo: “Si el usuario tiene 80 años y no sabe utilizar el móvil, no hay ningún problema”.

Wearebles

Se discute el desarrollo de un nuevo método para la medición no invasiva de la concentración de glucosa en sangre usando un teléfono inteligente. Este trabajo de investigación tiene tres grandes contribuciones a la sociedad y la ciencia:

- En primer lugar, se han modificado y ampliado la ley de Beer-Lambert en la física para dar cabida a múltiples longitudes de onda, esta extensión puede ayudar a los investigadores que deseen realizar espectroscopia óptica.
- En segundo lugar, se ha desarrollado con éxito una manera creativa y no invasiva para los pacientes diabéticos de medir los niveles de glucosa a través de un teléfono inteligente. Los investigadores y los químicos ahora pueden usar sus teléfonos inteligentes para determinar la absorbancia y, por lo tanto, la concentración de una sustancia química.
- En tercer lugar, han creado una manera barata de realizar espectroscopia óptica mediante el uso de un teléfono inteligente. El monitoreo de glucosa en sangre mediante una aplicación de teléfono inteligente que simplemente utiliza el equipo ya está disponible en los teléfonos inteligentes mejorará la vida de los pacientes diabéticos que pueden comprobar continuamente sus niveles de glucosa en la sangre, evitando los actuales medidores de glucosa invasivos incómodos, insalubres, y costosos.

Las empresas que durante muchos años y con escaso éxito han desarrollado tecnología en busca de opciones para que los diabéticos puedan comprobar sus niveles de azúcar en la sangre con facilidad y de forma no invasiva. Ahora, entre estas empresas se cuentan algunos gigantes como Apple, Samsung o Google, que participan activamente

en la búsqueda de aplicaciones de monitorización de glucosa para adaptarlas a sus nuevos relojes o pulseras inteligentes. "Todas las grandes quieren medidores de glucosa en sus teléfonos", dijo a Reuters John Smith, ex director científico de LifeScan, división de Johnson&Johnson encargada de fabricar dispositivos de monitorización de glucosa. Stephen Oesterle, vicepresidente Senior de Medicina y Tecnología de Medtronic, fabricante de, por ejemplo, bombas de insulina inalámbricas, dijo recientemente que considera a Google como el próximo gran rival de esta firma de dispositivos médicos, gracias a su financiación para la investigación y el desarrollo. "En Medtronic gastamos 1.500 millones al año en I+D, y es sobre todo desarrollo. Google está gastando unos ocho mil millones al año en I+D y, en la medida de lo que puedo decir, es sobre todo investigación". Google ha hecho ya públicos algunos de sus planes, por ejemplo, la lente de contacto inteligente que mide la glucosa.

Apple, por su parte, centra sus esfuerzos en el iWatch, la aplicación funciona mediante un diminuto sensor que se ubica debajo de la piel y que envía señales al reloj cada cinco minutos. La aplicación fue desarrollada por el fabricante de productos médicos DexCom.

Por su parte, otras fuentes -particularmente blogs en internet- han especulado con que Samsung está trabajando con nuevas empresas para poner en práctica, en los próximos relojes inteligentes Galaxy, una especie de "semáforo" capaz de lanzar alertas sobre el azúcar en sangre, cuando esté alta o baja.

Monitorización Flash de Glucosa

Tras muchos años de investigación e innumerables intentos frustrados por facilitar el día a día de los diabéticos, Abbott por fin hace realidad uno de los avances más importantes en las últimas décadas para el control, de la diabetes, el Freestyle Libre. Este medidor de glucosa no invasivo nos proporciona información detallada de los niveles de glucosa durante las 24 horas del día sin necesidad de realizar punzones. El medidor consta de dos partes: Un pequeño sensor que se coloca en la parte posterior del brazo y tiene un tamaño similar al de una moneda de dos euros, el sensor se encarga de recoger y almacenar los valores de glucosa día y noche durante 14 días. El lector, con un tamaño y peso reducidos, se encarga de proporcionarnos dichos niveles de glucosa, proporcionando los valores obtenidos durante las últimas 8 horas en modo de gráfica y el valor actual con cifras. Lo más novedoso es que el lector nos indicará la tendencia de nuestra glucosa en los próximos minutos. Debemos tener en cuenta que la pantalla del lector no es tan precisa, para personas con bastante vello o sudoración les es difícil mantener consigo el sensor y en ese caso el sensor es desechable.

Fig. 5-10: FreeStyle Libre



Medisensor C8

Fin. 5-11: Medisensor C8



El sensor CGM, es una caja metálica blanca, que mide 60x68x24 mm. Pesa unos 150 gr y se coloca en el abdomen o zona alta del muslo mediante un cinturón de unos 12 cm y elaborado de neopreno y cuenta con una batería recargable. Un producto de este tamaño y peso, puede ser más visible y menos cómodo que un sensor convencional sobre todo por la noche o practicando ejercicio, pero el HGi no es invasivo y tampoco causa dolor a la hora del pinchazo, puede retirarse y reemplazarse a voluntad y nunca requiere calibración por punción digital. La exactitud se mantiene con el

uso, y el producto viene pre calibrado y listo para utilizarse solo requiere unos 4 o 5 minutos de calentamiento.

El HGi-c es un sensor óptico, que mide los niveles de glucosa en la dermis utilizando la espectroscopia Raman. Hay una ventana pequeña de vidrio en la parte posterior del sensor que se coloca en contacto con la piel mediante un poco de gel ultrasónico para facilitar el acoplamiento óptico. Una vez hace contacto con la piel se hacen lecturas de la glucosa en sangre cada tres minutos y los valores son enviados vía Bluetooth a un teléfono inteligente (actualmente Android, pero se está desarrollando un aplicación para iPhone). La empresa recomienda mantener el sensor a menos de 2 metros del teléfono aunque en distancias mayores también podría ser eficaz. Operando con normalidad, el aparato se calienta un poco. El producto está en desarrollo desde el año 2003 e incorpora muchas tecnologías avanzadas. En informes previos sobre este dispositivo, se apuntaba que el MARD en pruebas clínicas humanas daba la cifra de 11,5%, con 100% de lecturas en la Clarke EGA, lo cual parece muy prometedor, la compañía sigue comprobando la exactitud de ésta cifra, que de ser correcta hace que el sensor sea más exacto que el Dexcom G4 Y el Medtronic Enlite, sin embargo, los datos del C8 se basaban en estudios de 90 minutos con referencia a los valores tomados cada 15 minutos con el YSI 2300 STAT Plus.

Diasensor

Fig. 5-11: Diasensor®



Fue desarrollado por Biocontrol Technology, Inc. como un equipo de apoyo para los glucómetros estándar. Permite medir los niveles de glucosa en menos de dos minutos, colocando el antebrazo del paciente en la bandeja del brazo del dispositivo, sin embargo, es relativamente grande y no pudo detectar episodios de hipoglucemia. El dispositivo dejó de elaborarse en el 2002 debido a limitaciones financieras y su funcionamiento no era el mejor.

5.1.3 Otros avances

Muchos dispositivos no invasivos para medir los niveles de glucosa han sido desarrollados pero no han sido comercializados:

- Aprise™ - Glucon Medical Ltd., Israel

Fue probado en 62 pacientes diabéticos y mostró resultados prometedores. En la Clarke EGA indicó 66.5% de correlatividad.

- Glucoband® - Calisto Medical Inc., USA

Según la información de su página web un estudio clínico fue realizado en la ciudad Los Angeles, California, en el Hospital Ciudad de Angeles a 44 personas. La EGA indicó 79% correlatividad. El coeficiente de correlación hecho por un glucómetro de AccuCheck fue del 0.89, sin embargo, los estudios no fueron revisados lo suficiente razón por la cual el prototipo que se tenía planeado lanzar para el 2011 nunca se llevó a cabo.

- SugarTrac™ - LifeTrac Systems Inc., USA

Los estudios llevados a cabo en el Hospital Brigham de Mujeres en Cambridge, Massachusetts fueron desfavorables y apuntaron a la necesidad de mejorar el diseño mecánico.

- Dream Beam - Futrex Medical Instrumentation, Inc., USA
- GluCall - KMH Co. Ltd., Korea;

Fue clínicamente probado en el Hospital Universitario Ajou, South Korea donde sus mediciones de glucosa fueron bien correlacionadas con los niveles tomados de la sangre venosa, sin embargo, no hubo mayor revisión.

- GluControl GC300® - ArithMed GmbH, Alemania fue desarrollado en compañía de Samsung Fine Chemicals Co. Ltd., Corea; Hitachi Ltd., Japón; Sysmex Corporation, Japan;
- TouchTrak Pro 200 - TouchTrak HC 300 - Samsung Fine Chemicals Co. Ltd, Corea;

- Dispositivos elaborados por Infratec Inc., USA
- GluMetrics LLC, USA;
- GlucoLight Corporation, USA;
- LighTouch Medical Inc., USA;
- MedOptix Inc., USA.

6. Metodología Propuesta

Como referencia se tomaron estudios previamente realizados donde se verifica la viabilidad del uso de la Espectroscopia en el desarrollo de dispositivos no invasivos para la medición de los niveles de glucosa.

6.1 Análisis del Fluido Intersticial In-Vitro e In-Vivo con láseres en cascada. - QCL

6.1.1 Modelos de Epidermis

Las muestras modelo de fluido intersticial para los líquidos intersticiales fueron producidos por la mezcla de distintos posibles componentes del fluido intersticial, como la glucosa, albúmina y lactato de sodio en una solución fisiológica regulada (PBS). Para cada componente, se seleccionaron tres concentraciones dentro del rango fisiológico. Los valores de la concentración de cada componente se muestran en la Tabla 1. Las muestras simuladas son combinaciones de estos valores de la concentración de cada uno de los componentes.

Tabla 1: Los valores de la concentración de glucosa, albúmina y lactato de sodio se combinan para producir el líquido intersticial de 63 muestras simuladas

Albumina (mg/dl)	Glucosa (mg/dl)	Lactato de Sodio (mg/dl)
1500	80	5
2750	110	20
5000	300	50

6.1.2 Muestras de líquido intersticial real

Las muestras de líquido intersticial real de tres voluntarios fueron recolectados después de producir una ampolla en la piel. Dos de los voluntarios había desarrollado la ampolla durante una caminata en las montañas durante varias horas, el tercero después de 15 segundos de la aplicación de nitrógeno líquido a una pequeña porción de piel, unos 5 mm de diámetro. Una jeringa se utilizan para extraer aproximadamente 12µL de líquido intersticial claro amarillo de cada ampolla, un volumen suficiente para un análisis de IR. Estas muestras se mantienen congeladas a -20° hasta el momento de su utilización.

6.1.3 Espectroscopia Infrarroja de Transformada de Fourier (FT-IR)

Espectros Infrarrojos del modelo real del fluido intersticial y muestras en el rango entre los 850 cm^{-1} y 1800 cm^{-1} se registraron con un BRUKER FT-IR espectrómetro tipo Vector 22 (BRUKER Optics, de Ettlingen, Alemania) equipado con un detector. Se registraron los espectros Interferogramas holográficos de 128 con una resolución de 4cm, con una reflexión total atenuada con un diamante de reflexión interna y 5 reflexiones. Las muestras se mantuvieron en 22°C durante la medición. Para todas las mediciones, la solución fisiológica regulada ha servido de referencia.

6.1.4 UV/VIS y Espectroscopia de Electroforesis en gel de muestras de Fluido Intersticial

Los espectros de absorción UV del fluido intersticial real se registraron en muestras utilizando un espectrómetro Nanodrop 2000c de Thermo Scientific. La fracción de proteína en el líquido intersticial de las muestras se estimó mediante electroforesis en gel de poliacrilamida mediante procedimientos estándar.

6.1.5 Espectroscopia Foto acústica de la piel

Las señales fotoacústicas de la piel se registraron utilizando una configuración descrita en un compendio de artículos llamado "Espectroscopia Vibracional" publicado por H. von Lilienfeld-Toal, M. Weidenmuller, A. Xhelaj, W. Mantele. Hasta seis láseres de cascada cuántica pueden ser utilizados. Cada salida del láser se forma a un haz paralelo usando un espejo parabólico fuera del eje. Un conjunto confocal de espejos parabólicos, que luego se utiliza para enfocar los rayos láser sobre la piel. Los dos Láseres más fuertes QCL con emisión de modo único en 1054 cm^{-1} y 1084 cm^{-1} fueron seleccionados debido a su proximidad a máximos de absorción de la glucosa. Como una longitud de onda de referencia, el tercero QCL que emite a 1100 cm^{-1} fue seleccionado. Todos los QCL fueron proporcionados por Alpes Lasers, Neuchâtel, Suiza. La celda fotoacústica fue diseñado como un gemelo Célula de gas fotoacústica Helmholtz con una amplia resonancia alrededor 2 KHz. En consecuencia, se seleccionó esta frecuencia para el pulso de láser secuencia. Una célula Helmholtz sirvió como una celda de muestra con el láser enfocando el haz sobre la piel, la otra como una célula de referencia sin láser pulso para compensar el ruido ambiental. Los agujeros de la célula eran aprox. 5 mm de diámetro y adyacentes el uno al otro. La medición de las señales PA foto acústica de la piel era iniciado presionando ligeramente la palma del pulgar a la muestra y las células de referencia. La señal del micrófono diferencial de la células (Referencia - Muestra) se amplificó y serán tratados en un sonido tarjeta del procesador para obtener la señal PA.

6.1.6 Análisis in vivo del fluido intersticial

Se realizaron pruebas de tolerancia oral a la glucosa estandarizada (OGTs) con dos voluntarios (8 y 4 pruebas, respectivamente) con el fin de modular el nivel de glucosa en la sangre y líquido intersticial. Brevemente, el voluntario ingiere una solución de glucosa 0,5L en $t = 0$. En una persona sana, los niveles de glucosa en la sangre aumentan después de un valor normal de aproximadamente 90 mg/dl a un valor máximo de 200-250 mg/dl en 30-50 minutos, seguido de un descenso en el valor normal de 2 a 3 horas. A los aumentos y disminuciones del nivel de glucosa se les tomó cada cinco minutos una muestra de sangre de la punta de los dedos y de glucosa en sangre, que fue analizada con tirillas de prueba estándar. A su vez, tres valores de una señal de glucosa foto acústica se registraron en la palma de la mano derecha, cada una de un período total de 15 segundos. Los resultados de los exámenes de los voluntarios consecutivos (8 y 4) se calcularon sin mayor procesamiento de datos como la relación entre la foto acústica de las señales inducidas por dos longitudes MIR con respecto a la onda de referencia.

6.2 Identificación de Longitudes de Onda para la medición no invasiva de glucosa en sangre en el Espectro NIR y MIR

6.2.1 Diseño Experimental

Se prepararon muestras con diferentes concentraciones que permitieran llevar a cabo el estudio en el rango fisiológico de la glucosa en sangre (20 mg/dl – 260 mg/dl). Las matrices utilizadas para las muestras de concentraciones crecientes fueron agua, plasma y sangre, para las cuales se utilizaron técnicas de dilución y adición estándar. Los tipos de muestras fueron seleccionadas debido a la necesidad de identificar las longitudes de onda sin ningún interferente biológico, y después poder evaluar los resultados de incluir los interferentes presentes en el plasma y la sangre. Por medio la técnica de dilución se construyeron 17 muestras de agua con D-glucosa con concentraciones diferentes en el rango especificado, en intervalos de 10 mg/dl y 20 mg/dl, estas muestras fueron preparadas por triplicado a partir de una solución base de 400 mg/dl con el objetivo de disminuir los errores involucrados en la construcción de las muestras, dicho procedimiento se realizó dos veces en diferentes días con lo que se elaboraron en total 102 muestras de D-glucosa en agua para la obtención de los espectros correspondientes en las regiones NIR y MIR. Por su parte, para las muestras de plasma (80% de plasma) y sangre (71,42% de sangre), se realizó un procedimiento de adición estándar en el que se utilizaron muestras de dos sujetos sanos en ayunas, previa aceptación por

consentimiento informado. Se mezclaron estas muestras con volúmenes específicos de soluciones de D-glucosa con agua y con agua ultra pura, para un incremento teórico de 20 mg/dl a partir de la concentración de la muestra con adición única de agua, obteniendo como resultado 11 muestras de plasma y 11 de sangre con adiciones desde 0 mg/dl (correspondiente a dilución de la muestra) hasta 200 mg/dl.

Para la extracción de las muestras de plasma y sangre, se utilizó el sistema de venoclisis por vacío BD Vacutainer y las muestras iniciales fueron almacenadas en tubos de ensayo con Heparina de Sodio para las muestras destinadas a la extracción de plasma y con Oxalato de Potasio y Fluoruro de Sodio para las muestras de sangre. Tanto las mediciones iniciales de las concentraciones de glucosa de los sujetos en ayunas como los resultados del proceso de adición estándar se midieron tres veces utilizando el glucómetro Contour TS de Bayer y así poder obtener la concentración final real a la que se llegó con cada una de las adiciones. Los espectros de transmitancia se obtuvieron utilizando el espectrofotómetro Shimadzu Prestige IR-21, y los accesorios ATRMax II (Pike Technology) para la región MIR, y Demountable Liquid Cell (Pike Technology) para la región NIR.

Mediante orden aleatorio, indicado por el software Matlab®, se tomaron los espectros de las muestras. Se tomaron tres espectros para cada una de las muestras, en momentos diferentes como lo indicaba el proceso de aleatorización y así evitar la influencia de condiciones temporales en el ambiente del laboratorio. Es así que se prepararon 6 sets de muestras (2 de Agua, 2 de Plasma y 2 de Sangre) para ser analizados en las regiones NIR y MIR mediante la obtención de tres espectros por cada una de las muestras. Obteniendo un total de 12 sets de espectros en los cuales cada muestra tiene tres espectros.

6.2.2 Procesamiento de Datos

Cada una de las señales de transmitancia fueron filtradas mediante el método Savitzky-Golay utilizando el software MatLab®, con el fin de tener una señal con la menor distorsión posible para la posterior extracción de información analítica, éste método es comúnmente utilizado en señales de espectroscopia ya que se conserva la información de alta frecuencia característica de estas señales. La técnica de promediado de espectros es ampliamente utilizada en el área de quimiometría en busca de la reducción del ruido presente en las señales obtenidas e identificar los denominados “outliers” o

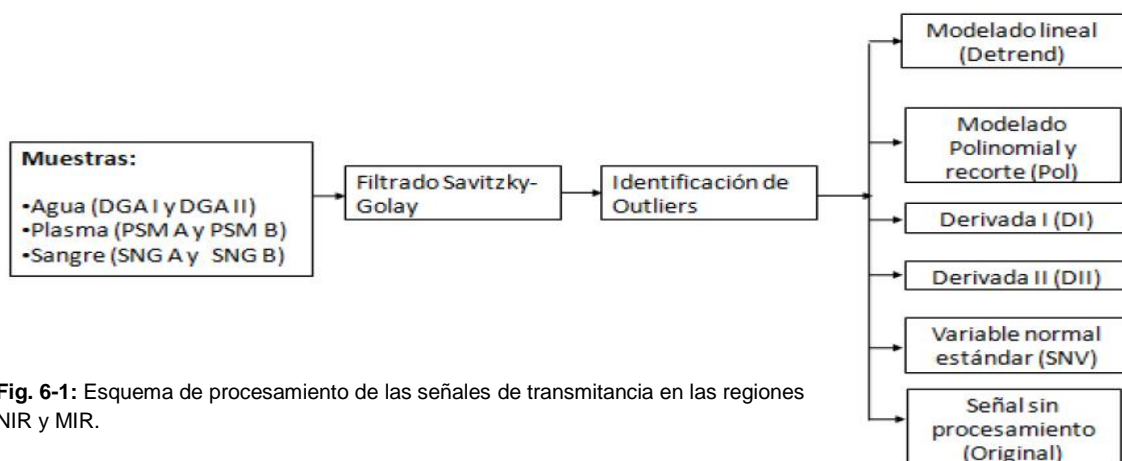


Fig. 6-1: Esquema de procesamiento de las señales de transmitancia en las regiones NIR y MIR.

valores atípicos dentro del set de medición. Con el fin de tomar ventaja de la repetición (tres veces de forma aleatoria) de los espectros de transmitancia y de la preparación por triplicado de las muestras de agua y glucosa, se realizó una identificación gráfica de outliers que eliminó espectros alterados por posibles factores aleatorios (sin tener que eliminar ninguna de las concentraciones por completo), seguida de un promediado de los espectros restantes correspondientes a cada una de las concentraciones, este proceso ayudó a la identificación del set de espectros obtenidos en la región NIR para uno de los de los dos grupos de muestras de agua y glucosa, que evidenció un comportamiento completamente diferente al de los otros espectros tomados con la misma técnica, por lo que fueron eliminados del estudio. De igual forma se descartaron espectros individuales de algunas muestras sin eliminar ninguna de las concentraciones, pues los espectros restantes fueron promediados para obtener el espectro final de cada una.

Se obtuvo un total de 139 espectros para ambas regiones una vez se completó el promediado, a los cuales se les aplicaron las técnicas de procesamiento espectral planteadas.

Se aplicaron de forma paralela cinco procesamientos en los que se incluyeron correcciones de línea base en busca de la identificación de las técnicas de procesamiento que llevaran a una mejor predicción de la glucosa en sangre: Sustracción de modelado lineal (Detrend); Sustracción de modelado iterativo polinomial con recorte; Primera y segunda derivada de la señal; y técnica de variable normal estándar (SNV). De esta forma, se obtuvieron 6 sets de señales para cada una de las diferentes matrices (agua, plasma sangre), incluyendo los resultados de los procesamientos mencionados anteriormente y las señales originales filtradas.

6.2.3 Selección de regiones y longitudes de onda

En la búsqueda de la identificación de longitudes de onda y regiones que pudieran llevar a una predicción acertada de la concentración de glucosa de las muestras, se aplicaron tres métodos de selección de variables basados en técnicas estadísticas utilizadas para determinar la importancia de una variable determinada en relación a la predicción de una segunda, pero que no habían sido aplicadas aún por los estudios orientados hacia la identificación de longitudes de onda IR para la predicción de glucosa en sangre.

- La primera de las técnicas es el cálculo del factor de mérito (FM). Este cálculo se lleva a cabo a partir de la varianza de los espectros obtenidos para cada longitud de onda; el método realiza una comparación entre varianza interclase e intraclase, para lo que se agrupan espectros definiendo rangos de concentraciones de la muestra a analizar. Un valor alto de FM a una longitud de onda particular implica que la distancia media entre cada medida de una clase y la posición del centroide de la misma es menor a la distancia media entre las centroides de todas las clases. Éste índice determina si la variabilidad observada corresponde al azar, o si existen diferencias significativas de la señal para cada una de las muestras y permite realizar una selección de las variables con mayor FM. El cálculo se realiza a partir de la Ec. (1):

$$FM_j = \frac{V.interclase}{V.intraclase} \quad (1)$$

- La segunda técnica implica el cálculo de la información mutua (IM). Ésta métrica, al igual que la anterior, permite identificar la importancia de cada variable para la

predicción a realizar; sin embargo, se basa en técnicas estadísticas diferentes. La IM calcula la diferencia entre la entropía (medida de la incertidumbre) de la variable dependiente y la entropía de la misma variable cuando se conoce el valor de la variable independiente. En esta métrica que tiene un rango de cero a uno, valores cercanos a cero indican independencia entre las variables, mientras que valores cercanos a uno marcan una alta correlación entre ellas. En la Ec. (2), se ilustra el cálculo como la diferencia de la entropía H de la variable X y la entropía de esa variable cuando se conoce el valor de una variable Y :

$$I(X:Y) = H(X) - H\left(\frac{X}{Y}\right). \quad (2)$$

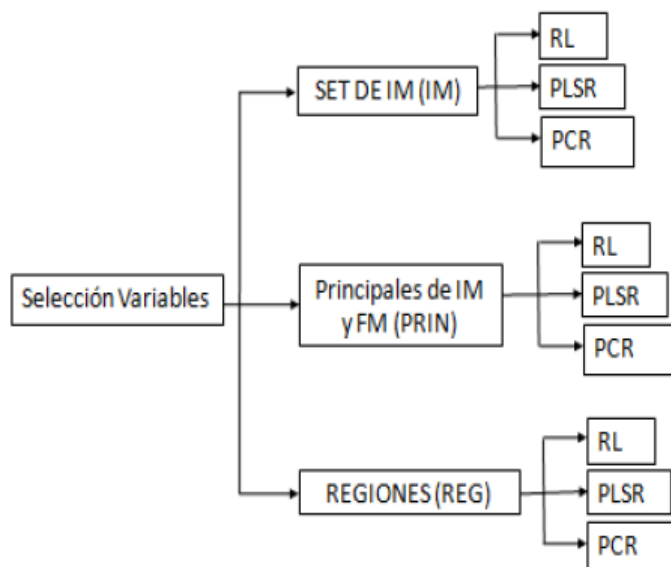
La selección de las longitudes de onda a ser incluidas en cada uno de los modelos de regresión se realizó de tres maneras diferentes.

- La primera fue incluyendo las primeras 20 longitudes de onda con mayor FM y las primeras 20 con mayor IM en un solo set de calibración
- La segunda fue identificando regiones de interés de forma visual al graficar el 10% de las variables con mayor IM y el 10% con mayor FM de forma independiente
- La tercera consistió en utilizar un algoritmo que seleccionara el set de longitudes de onda que maximizara la IM, de tal forma que ésta no aumentaría agregando ninguna de las longitudes de onda restantes.

6.2.4 Validación de los modelos

Después de aplicar los tres tipos de selección de variables mencionados anteriormente a cada uno de los sets de datos que se tenían para cada tipo de matriz (2 de agua en MIR, 2 de plasma en MIR, 2 de sangre en MIR, 1 de agua en NIR, 2 de plasma en NIR, y 2 de sangre en NIR), se llevaron a cabo tres tipos de regresión: Regresión lineal simple (RLS); Regresión de mínimos cuadrados (PLSR) y regresión de componentes principales (PCR). El esquema de la selección de variables y los modelos de regresión aplicado a cada set de datos.

Fig. 6-2: Esquema de identificación de longitudes de onda y aplicación de modelos de regresión.



Se obtuvo entonces un total de 324 modelos de regresión para la región MIR, y 270 modelos para la región NIR, a los cuales se les calculó el error cuadrático medio de validación cruzada (RMSECV por sus siglas en inglés: Root Mean Square Error of Cross Validation), como indicador de la capacidad de predicción del modelo, debido a que el procedimiento “leave one out” de la validación cruzada permite evaluar todo el rango de

concentraciones y trabajar con modelos contruidos a partir de una cantidad adecuada de muestras en el set de calibración.

6.2.5 Resultados

Para cada uno de los set de datos se calcularon los índices IM y FM, y se obtuvieron los

TABLA I
Selección de modelos en la región del medio infrarrojo (MIR).

Técnicas Utilizadas	RMSECV REGIÓN MIR									
	DGA1	DGA2	PSMA	PSMB	SNGA	SNGB	PROM DGA	PROM PSM	PROM SNG	PROM TOTAL
<u>DI, PRIN, PLS</u>	27.0	39.6	31.8	26.9	71.4	62.2	33.3	29.4	66.8	43.2
<u>DII, PRIN, PCA</u>	34.6	34.1	54.7	25.0	95.9	60.7	34.4	39.9	78.3	50.8
<u>DI, PRIN, PCA</u>	20.2	28.1	33.9	25.1	92.0		<u>24.2</u>	29.5	92.0	<u>39.9</u>
<u>DII, PRIN, PLS</u>	32.6	28.3	57.6	35.9		70.1	30.5	46.8	70.1	44.9
<u>DI, IM, PLS</u>		48.0	35.8	26.9	49.6	74.1	48.0	31.4	<u>61.9</u>	46.9
<u>ORIGINAL, IM, PLS</u>		26.2	55.4				26.2	55.4		40.8
<u>ORIGINAL, PRIN, PLS</u>			54.8	28.6				41.7		41.7
<u>ORIGINAL, PRIN, PCA</u>			58.1	28.6				43.4		43.4
<u>POLINOMIAL, PRIN, PCA</u>				25.6		77.7		<u>25.6</u>	77.7	51.7

TABLA II
Selección de modelos en la región del cercano infrarrojo (NIR).

	RMSECV REGIÓN NIR								
	DGA1	PSMA	PSMB	SNGA	SNGB	PROM DGA	PROM PSM	PROM SNG	PROM TOTAL
<u>DI, IM, PLS</u>	56.9	29.4	68.3	56.2	104.6	56.9	48.9	80.4	63.1
<u>DII, PRN, PLS</u>	65.8	27.2	73.4	77.6	106.8	65.8	50.3	92.2	70.2
<u>DII, IM, PLS</u>	45.3	20.4		61.4	56.8	<u>45.3</u>	<u>20.4</u>	59.1	46.0
<u>DI, PRN, PLS</u>	57.8	48.0	43.4		47.9	57.8	45.7	<u>47.9</u>	49.3
<u>DII, PRN, PCA</u>	73.5	31.1	75.6	72.9		73.5	53.4	72.9	63.3
<u>DI, PRN, PCA</u>	48.8		36.4		49.8	48.8	36.4	49.8	<u>45.0</u>
<u>SNV, PRN, PLS</u>			45.0	45.6			45.0	45.6	45.3
<u>DI, REG, PLS</u>	24.6	69.6				24.6	69.6		47.1

gráficos respectivos. Se seleccionaron los 15 modelos con menor RMSECV de cada tipo de muestra, y se obtuvieron las longitudes de onda que hacían parte de cada uno de ellos. A partir de esta clasificación inicial, se identificaron las técnicas de procesamiento con mejores resultados, se reportaron los errores RMSECV que correspondían, y se elaboró un resumen que se muestra en las Tablas I y II con las combinaciones de las técnicas de procesamiento, en el cual los espacios vacíos indican que para la muestra de esa columna, el procesamiento de esa fila no fue seleccionado dentro del grupo de modelos con mejor comportamiento de predicción. Estas tablas se realizaron para cada región, y se llevó a cabo la selección de los cinco modelos más significativos por región de acuerdo a su aparición en la mayoría de sets de muestras (sombreados), los cinco con menor promedio total (subrayados) y se identificó de forma adicional los modelos con menor RMSECV para las muestras DGA, PSM y SNG de forma individual (valores en

negrilla). Se identificó una marcada repetición de longitudes de onda en los modelos seleccionados, entre 648 cm^{-1} y 1250 cm^{-1} y entre 3000 cm^{-1} y 3870 cm^{-1} , común tanto para las muestras de agua como para las de plasma y sangre. Con poca aparición en las muestras de agua, pero con presencia significativa en muestras de plasma y sangre, se identificaron longitudes de onda entre 1850 cm^{-1} y 2210 cm^{-1} , y entre 2350 cm^{-1} y 2565 cm^{-1} . De igual forma se identifican, aunque con menor repetición, algunas longitudes entre 1380 cm^{-1} y 1726 cm^{-1} para dichas muestras. Por otro lado, en la región NIR se identifican longitudes de onda entre 11100 cm^{-1} y 11950 cm^{-1} , y entre 5190 cm^{-1} y 5700 cm^{-1} en la mayoría de los modelos seleccionados, tanto para las muestras de agua, como para las de plasma y sangre.

Fig. 6-3: Factor de mérito de muestras de plasma en la región del cercano infrarrojo (NIR): Señales filtradas sin procesamiento adicional correspondientes a muestras del sujeto A.

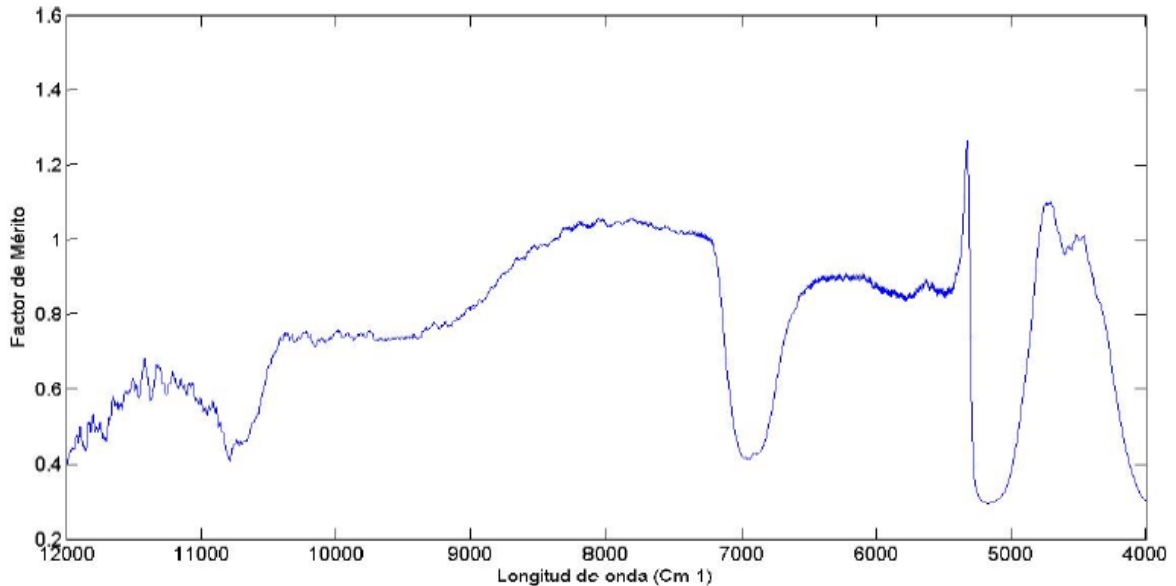
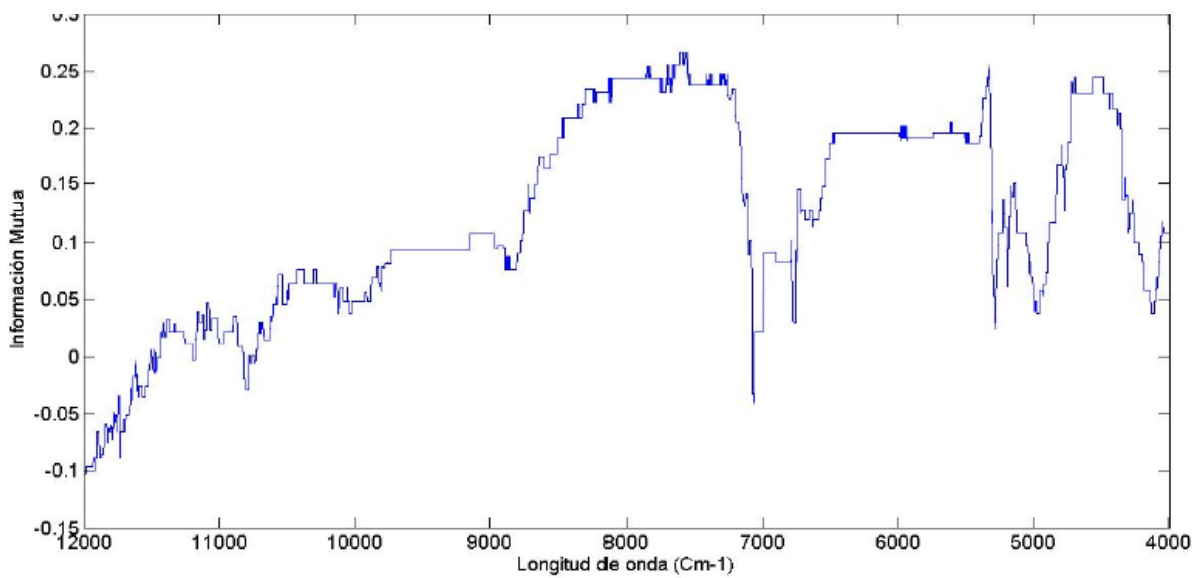


Fig. 6-4: Información mutua de en la región del cercano infrarrojo (NIR): Señales filtradas sin procesamiento adicional correspondientes a muestras del sujeto A.



Uno de los modelos que utiliza la selección del set principal seleccionado a partir de la Información Mutua, presenta de forma aislada longitudes de 5958 cm^{-1} y 5890 cm^{-1} , cercanas a la región anterior. Se observa la presencia de longitudes entre 8790 cm^{-1} y 9265 cm^{-1} en una mayor proporción para muestras de plasma y sangre que para muestras de agua, mientras que entre 4300 cm^{-1} y 4900 cm^{-1} se presentan en varios de los modelos de agua, y en menor proporción en las muestras de plasma. Longitudes entre 6000 cm^{-1} y 6760 cm^{-1} se tuvieron presencia exclusivamente en las muestras de plasma de varios de los modelos, y se evidencia una menor cantidad de longitudes entre 10400 cm^{-1} y 10900 cm^{-1} tanto en muestras de plasma como de sangre.

Con el fin de identificar de forma más clara regiones potencialmente útiles en la predicción de glucosa en las matrices estudiadas, se evaluó la frecuencia de aparición de las longitudes seleccionadas en las regiones anteriores tanto en el espectro NIR como en el MIR. Como resultado se obtuvo una mayor importancia para longitudes entre 648 cm^{-1} y 1250 cm^{-1} y entre 2350 cm^{-1} y 2565 cm^{-1} para el espectro MIR, mientras que en el NIR sobresalieron longitudes entre 11100 cm^{-1} y 11950 cm^{-1} , y entre 5190 cm^{-1} y 5700 cm^{-1} . Estas regiones se muestran de forma gráfica así.

Fig. 6-5: Identificación de regiones más relevantes en el espectro Infrarrojo Medio (MIR): Señales filtradas sin procesamiento adicional correspondientes a muestras del sujeto A.

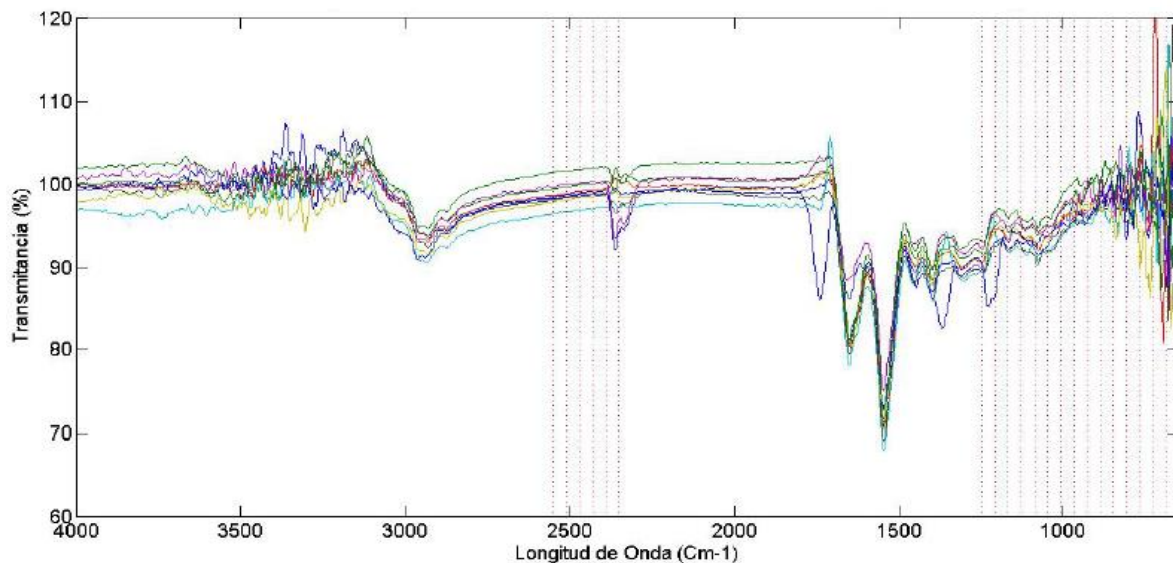
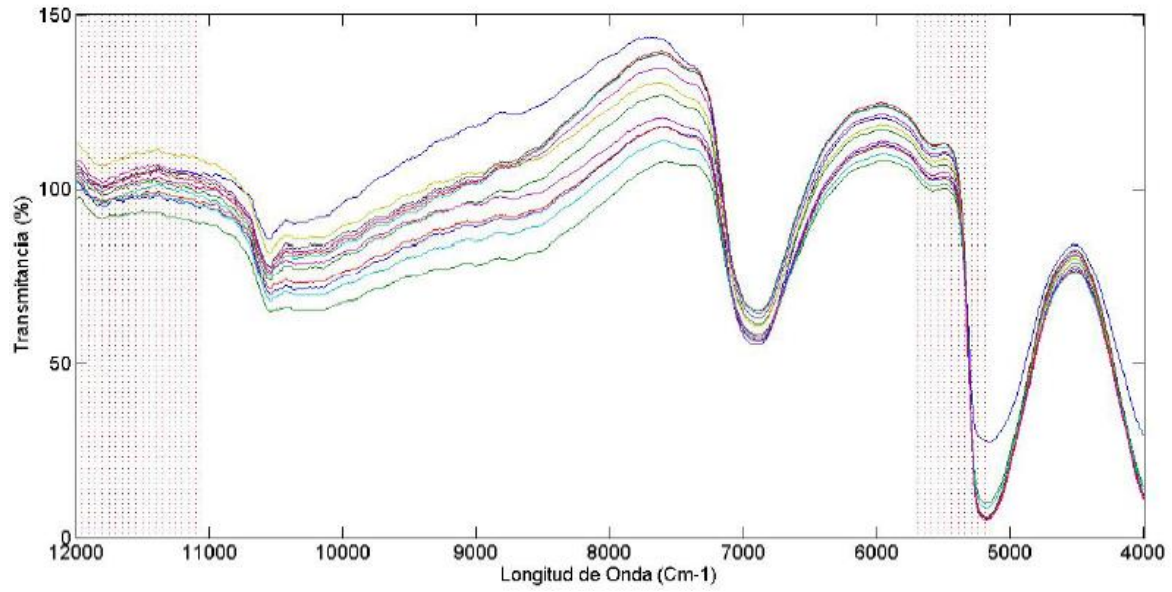


Fig. 6-6: Identificación de regiones más relevantes en el espectro Infrarrojo Cercano (NIR): Señales filtradas sin procesamiento adicional correspondientes a muestras del suero A.



7. Análisis en Colombia

Si acercamos la realidad de esta enfermedad a nuestro país, decimos que anualmente cobra la vida de unos 20.000 Colombianos y que además de ello 3.3 millones de personas sufren de diabetes, donde hay 2.2 millones diagnosticadas y más de 1 millón de personas, que se cree padecen la enfermedad y que no están diagnosticadas por lo que no se están tratando (datos brindados por el Ministerio de Salud en el 2016).

La población más impactada son los pacientes entre los 20 y 75 años. El atender esta enfermedad implica un costo muy alto para el sistema de salud ya que son muchas las especialidades que involucra su tratamiento (se debe evitar que la persona tenga una insuficiencia renal y que pierda la visión por desprendimiento de la retina, que tenga un accidente cardiovascular masivo o un accidente cerebrovascular, debido a la diabetes de fondo, pero si nosotros logramos que nuestra población cambie gradualmente sus hábitos alimenticios, sus prácticas de actividad física, que disminuya el consumo de alcohol, el consumo de tabaco, estaremos además dando respuesta los factores de riesgo, de las otras enfermedades crónicas no transmisibles) aunque el mayor costo en realidad lo representa la calidad de vida que tiene una persona que padece diabetes.

Los glucómetros tradicionales obtienen los niveles de glucosa por medio de la glucemia capilar y son los dispositivos más usados comúnmente, rápidos y eficaces pero muy incómodos. Para llevar un correcto autocontrol de la diabetes se requieren de varias mediciones diarias y constantes, bien sabido es que la glucemia capilar se mide mediante un pequeño pinchazo en un dedo para extraer una gota de sangre y luego se coloca en una tira reactiva donde analiza mediante un glucómetro. El pinchazo se realiza mediante una lanceta o un bolígrafo especial que contiene una aguja fina, también es necesario disponer de las tiras reactivas, necesarias para completar la medición de glucosa en sangre. Los médicos recomiendan anotar el valor obtenido en un cuaderno aunque los glucómetros disponen de una memoria en la que se almacenan los datos de cada medición realizada. Dependiendo los resultados obtenidos, si la glucosa es demasiado alta o demasiado baja, el paciente puede tomar medidas con mayor antelación. Anotadas en un cuaderno, las mediciones se pueden acompañar por anotaciones referidas a comida y actividades realizadas por el paciente, este autocontrol genera un mayor conocimiento de los niveles de glucemia en el tiempo que permite reducir los riesgos de complicaciones como la ceguera, los ataques cardíacos, la insuficiencia renal y la amputación. El médico podrá revisar el control de la glucosa, determinar la causa de eventuales subidas o bajadas de la glucemia y, de ser necesario, modificar el tratamiento para un mejor control de la misma.

Los Glucómetros tradicionales que se encuentran en el mercado desde Mayo de 2016 deben cumplir con los criterios de exactitud de la norma ISO 15197:2003, que especifica que el 95% de los resultados deben estar dentro de un margen de $\pm 20\%$ para concentraciones de glucosa ≥ 75 mg/dl, y de ± 15 mg/dl cuando sea menor de 75 mg/dl. Estos dispositivos pueden tener un costo entre los \$50.000 y los \$70.000 dependiendo de la marca; los insumos (Tirillas y Lancetas) pueden costar un combo de 50/50 \$50.000. Tanto el dispositivo como los insumos son proveídos por algunas EPS, después de pasar por numerosos trámites.

Cabe resaltar que la prueba de glucemia capilar tiene algunas ventajas, ya que la muestra de sangre es relativamente fácil de obtener (más que una muestra de sangre tradicional) y la muestra se puede tomar en diversos sitios de recolección (el talón, la punta de los dedos) y los cuales se pueden intercalar. Así mismo le da la posibilidad al paciente de extraer dicha muestra en la comodidad de cualquier lugar y con un entrenamiento mínimo.

Si bien esto supone un avance de los glucómetros comercializados, todavía existe un margen importante a mejorar que ayude a las personas con diabetes a detectar las hipoglucemias/hiperglicemias o de calcular las unidades de insulina a inyectar según corresponda, es decir, a pesar de ser prácticos carecen de una función predictiva ya que su aporte al paciente se queda limitado únicamente en detectar los niveles de glucosa

Fig. 7-1: Prototipo SOKIS



cuando el paciente se toma la muestra, pero en realidad no le permite saber cómo se comporta su cuerpo en función de la enfermedad que padece. Por ende, el avance de la tecnología y la utilización de técnicas invasivas se han unido a la necesidad de la obtención de los niveles de glucosa en sangre en personas con alteraciones en glicemia.

A raíz de esta necesidad se han realizado estudios acerca de diferentes técnicas que buscan la obtención de los niveles de glucosa de forma no invasiva, indolora, cómoda y aún más práctica para el paciente. Cada técnica estudiada tiene algunas limitantes que deben ser solucionados para poner en marcha su aplicación clínica.

La Iontoforesis Reversa por ejemplo se ve afectada por la transpiración del paciente, que es un factor que dificulta la medición de la glucosa por medio de esta técnica y además requiere un tiempo mínimo para recolectar glucosa suficiente para la medición lo que provoca irritaciones en la piel.

En la Fluorescencia, la luz del láser ultravioleta es utilizada para excitar una solución de glucosa y el resultado obtenido fue proporcional a la concentración de glucosa que fue detectada en 380nm , esta técnica tiene una potencial ventaja ya que la señal no se ve afectada por fluctuaciones en la intensidad de la luz del medio ambiente, sin embargo, si

depende del espesor de la dermis, la pigmentación de la piel, entre otros, teniendo en cuenta que tiene una gran dispersión.

Por medio de la Detección Electromagnética se demostró que la resonancia puede detectar el metabolismo del glucógeno en el cerebro humano, sin embargo estas mediciones son afectadas bruscamente por los cambios de temperatura, los parámetros dieléctricos de la sangre debido a otros componentes fisiológicos.

La Polarimetría no se ve afectada por las fluctuaciones de la temperatura y el pH, pero sufre de la interferencia por artefactos en movimiento y ruidos ópticos de otras sustancias, preocupaciones por la seguridad de los ojos a la exposición de la luz, y requerimientos de tecnología para medir en ángulos pequeños. La técnica tiene una pobre especificidad de la glucosa en los fluidos fisiológicos debido a la interferencia que generan los solutos activos ópticamente. La dispersión de la luz debido a los tejidos también afecta las mediciones, como la piel del estrato corneo lleva a la alta dispersión y no puede ser usado para esta técnica. También hay un desfase en la concentración de glucosa del humor acuoso en comparación con las concentraciones de glucosa en sangre. Se empleó un rotador de Faraday con una fibra de vidrio de piedra en un modo único para mejorar la sensibilidad de la técnica en la detección de glucosa, proporcionando una resolución de 0.55mmol/L.

Por medio de la Tomografía de Coherencia Óptica se pueden obtener imágenes de alta resolución en dos dimensiones por la exploración en profundidad y lateral. El escáner de los tejidos en profundidad (hasta 1 mm de profundidad) y la superficie del tejido se realizan por el movimiento del espejo dentro de la referencia y la muestra del interferómetro, respectivamente. El índice de refracción de los fluidos intersticiales aumenta en respuesta al aumento de la concentración de glucosa y cambia su coeficiente de dispersión que es usado para determinar la concentración de glucosa.

En la actualidad, la técnica más aceptada científicamente es la Espectrofotometría, la cual estudia la absorción de la luz por parte de las moléculas presentes en una muestra, y mediante este fenómeno busca la determinación cuantitativa de los compuestos en la solución analizada, tal y como lo realiza la medición no invasiva de la saturación de Oxígeno en sangre (SaO_2) utilizando una pinza en el dedo índice. Básicamente es una técnica muy fácil y sencilla de usar, debido a esto, esta técnica ha sido ampliamente estudiada con el fin de determinar las regiones del espectro y las posibles longitudes de onda que interactúan de una mejor forma con la molécula de glucosa y se concluye en que la utilización de luz infrarroja es la mejor para este fin. Se han realizado investigaciones con el fin de mejorar, desde una perspectiva instrumental y de procesamiento de datos, la predicción de los niveles de glucosa en sangre, estas últimas han concluido en la necesidad de mejorar este tipo de métodos para su aplicación clínica mediante estudios enfocados hacia las técnicas de procesamiento de las señales y la selección de la región de análisis que se enfocan en el mejoramiento del protocolo para la toma de muestras espectrales y del desarrollo tecnológico de los elementos utilizados

para la medición no invasiva del nivel glucosa usando NIR, tal que permitan que la técnica sea clínicamente aceptada.

Dentro de todos los métodos de la Espectrofotometría encontramos varias ramas:

La Espectroscopia de Bioimpedancia que es afectada por el contenido de agua y el estado de alguna enfermedad que pueda afectar a la membrana celular. El dispositivo Pendra de Pendragon usa dicha técnica.

La Espectroscopia Ocular tiene varias limitaciones ya que el uso de los lentes resulta ser muy incómodo, el desfase de la concentración entre la glucosa en lágrimas y en sangre especialmente en cantidades por debajo de los 5,55 mmol/L, la biocompatibilidad, la resolución de la señal y la durabilidad de la misma aun requieren mejoras. Un estudio clínico demostró que la correlación entre la glucosa de la sangre con la de las lágrimas es pobre y que los resultados pueden ser diferentes en cada ojo, lo que genera gran incertidumbre de cómo este sistema podría ser calibrado si hay pacientes con problemas de visión que harían imposible poder remover 1 μ L de lágrimas del ojo utilizando un capilar.

La Espectroscopia Raman de una mayor superficie podría incrementar la sensibilidad de la detección de glucosa y así mismo disminuir el tiempo de adquisición espectral. El daño foto térmico causado a los ojos necesita ser críticamente investigado antes de que pueda ser empleado en humanos.

La Espectroscopia Foto Acústica no se ve afectada por el agua gracias a su pobre respuesta foto acústica y además puede emplear luz láser con un amplio rango de longitud de onda desde el espectro Ultravioleta hasta el NIR; la técnica si es sensible a los cambios de temperatura, presión, interferencias de sustancias fisiológicas y otros cambios ambientales. Aprise de Glucon tiene una buena correlación con los niveles de glucosa en sangre aunque sufre de poca sensibilidad e interferencias no específicas a sustancias fisiológicas.

Las muestras obtenidas por medio Espectroscopia de Infrarrojo Medio (MIR) usualmente se adquieren de la piel del dedo o de la mucosa oral y han mostrado ser dependientes del contenido de agua en la piel.

Ahora, la Espectroscopia Infrarrojo Cercano tiene serias limitaciones por la afectación de parámetros fisicoquímicos, como el cambio de temperatura en el cuerpo, la presión en sangre, la hidratación de la piel y las concentraciones de triglicéridos y albumina. Además es sensible a las variaciones del medio ambiente: temperatura, humedad, presión atmosférica y el contenido de CO₂. Las mediciones también son afectadas por el grosor y las propiedades térmicas de la piel, estados de enfermedad como hiperglicemia e hiperinsulinemia. Las mediciones en el NIR se determinan de la concentración total de glucosa en sangre y en el fluido intersticial en los tejidos, pero es difícil separar la contribución en cualquiera de los dos casos. Entre los dispositivos que usan esta técnica

están SugarTrack (650 nm, 880 nm, 940 nm, and 1300 nm) y Sensys (750–2500 nm). Orsense emplea una improvisada técnica basada en la espectroscopia de oclusión donde el flujo de sangre es detenido en la punta del dedo temporalmente usando una luz proyectada en 610nm y 810nm.

Se ha demostrado que el líquido intersticial en la piel es accesible por la luz infrarroja y por lo tanto un candidato prometedor para una medición no invasiva de glucosa basado en la espectroscopia infrarroja. La comparación del Fluido Intersticial original con muestras del modelo indican que las únicas sustancias de significativa concentración detectada mediante espectroscopia de infrarrojo medio son albúmina, glucosa y lactato.

Fig. 7-2: Prototipo SOKIS



Debido a sus propiedades espectrales, y para longitudes de onda seleccionadas, la albúmina y el lactato se pueden despreciar para el cálculo de la glucosa sobre la base de datos de espectroscopía IR. El lactato de sodio podría interferir con la medición de la glucosa en el líquido intersticial, ya que sus niveles en la muestra son los más altos, por ende mayor será el error en las mediciones de glucosa, esto puede ser entendido teniendo en cuenta las propiedades de absorción de lactato de sodio en algunas regiones de la huella

espectral para la glucosa, sin embargo, para la euglucémico y el estado hiperglucémico, la relación de lactato a glucosa en el plasma disminuye lentamente mientras se mueve desde la euglucemia a la hiperglucemia (0,14-0,13). Este posiblemente no es el caso para el estado hipoglucémico, estado en el que la proporción de lactato en glucosa podría elevarse a 0,45. El problema de la posible interferencia de lactato también puede ser resuelto, completando el conjunto de longitudes de onda que consta de una longitud de onda de referencia y algunas longitudes de onda sensibles para la glucosa por una longitud de onda con mayor especificidad para el lactato. *Los datos reportados también apoyan la elección del infrarrojo medio espectroscopía para la medición de la glucosa debido a su alta especificidad, en particular, en contraste con la espectroscopia de infrarrojo cercano, además, la espectroscopia de infrarrojo cercano asume el riesgo de valores de absorbancia debido a la temperatura dependiente, ocupación de mayores transiciones vibracionales que forman la base para esta insinuación espectroscopica.*

De los 18 modelos seleccionados que incluyen las regiones MIR y NIR, 12 correspondían al procesamiento derivativo, mientras que otros 6 correspondían a procesamiento de corrección polinomial de línea base, cálculo de variable normal estándar y señales originales. Lo anterior indicando los cálculos de primera y segunda derivada como procesamientos óptimos en la identificación de las longitudes de onda que presentan relación con la concentración de glucosa en las muestras. Se identificó también que 13 de los modelos seleccionados utilizaron las principales longitudes de onda teniendo en cuenta los criterios de información mutua y factor de mérito en conjunto, 4 utilizaron la selección exclusiva del set de datos que maximiza la información mutua, y tan solo 1 utilizó una región como fuente de datos. De esta forma se hace evidente la utilidad de combinar la ponderación de ambas métricas en la selección de las longitudes de onda óptimas para la predicción. En las Figs. 6-3 y 6-4 se evidencia la congruencia entre la ponderación que realiza la IM y el FM. Sin embargo, la utilización de ambas métricas en simultáneo permitió una mejor identificación que se ve evidenciada en que 13 de los 18 modelos con menor RMSECV utilizaron la combinación de estas como criterio de selección de variables a incluir en los modelos de regresión.

TABLA III
Regiones coincidentes con estudios anteriores en la región cercana del infrarrojo (NIR).

Región hallada en Cercano Infrarrojo (NIR)	Región Coincidente	Autor
<u>5958 cm⁻¹ y 5890 cm⁻¹</u>	5924 cm ⁻¹	Dr. Pulenta: Armónico de la vibración C-H (2005) [9]
<u>5190 cm⁻¹ a 5700 cm⁻¹</u>	5296 cm ⁻¹ y 7194 cm ⁻¹	Y-J-Kim. G. Yoon (2006) [20]
<u>11100 cm⁻¹ a 11950 cm⁻¹</u>		
	N/A	N/A
8790 cm⁻¹ a 9265 cm⁻¹	N/A	N/A
4300 cm ⁻¹ a 4900 cm ⁻¹	4180 cm ⁻¹ a 4892 cm ⁻¹	Y-J-Kim. G. Yoon (2006) [20]
6000 cm ⁻¹ a 6760 cm ⁻¹ ;	N/A	N/A
10 400 cm ⁻¹ a 10900 cm ⁻¹		

Los hallazgos presentados coinciden parcialmente con diferentes autores que han trabajado de forma individual las regiones NIR y MIR.

TABLA IV
Regiones coincidentes con estudios anteriores en la región media del infrarrojo (MIR).

Región hallada en Medio Infrarrojo (MIR)	Región Coincidente	Autor
<u>648 cm⁻¹ y 1250 cm⁻¹</u>	1000 cm ⁻¹ a 1230 cm ⁻¹ ; pico en 1033 cm ⁻¹	Dr. Petibois: Absorción enlace C-O (1999) [21]
	1022 cm ⁻¹ a 1119 cm ⁻¹	Y-J- Kim, S. Hahn, y G. Yoon. (2003) [22]
	1032 cm ⁻¹ , 1042 cm ⁻¹ , y 993 cm ⁻¹	Vargas y colaboradores (2009 y 2011) [7, 9]
	800 cm ⁻¹ a 1275 cm ⁻¹	Absorción teórica enlace C-O-C
<u>1380 cm⁻¹ y 1726 cm⁻¹</u> <u>1850 cm⁻¹ a 2210 cm⁻¹</u> ; <u>2350 cm⁻¹ y 2565 cm⁻¹</u>	N/A	N/A
3000 cm ⁻¹ a 3870 cm ⁻¹	3120 cm ⁻¹ a 3570 cm ⁻¹	Absorción teórica enlace O-H
	3020 cm ⁻¹ a 3085 cm ⁻¹	Absorción teórica enlace C-H

En las Tablas III y IV se identifican las regiones y longitudes de onda coincidentes con estudios anteriores, y se identifican regiones no especificadas anteriormente. De igual forma se subrayan las regiones identificadas como de mayor importancia dentro de los resultados del estudio, y se realiza un énfasis con un cuadro alrededor de las regiones que se identificaron en mayor proporción en las muestras de plasma y sangre. Estas últimas deberían ser analizadas de forma más detallada con el fin de identificar si corresponden a compuestos exclusivos del plasma y la sangre que no se relacionan con los niveles de glucosa en dichas matrices. Lo anterior permite ver que para la región MIR únicamente uno de los intervalos de longitud de onda identificados como de mayor importancia (subrayados) se encuentra presente en una alta proporción en los modelos de plasma y sangre, mientras que para la región NIR, ninguno de los mismos está dentro de esta selección, y para ninguna de las dos regiones existe una coincidencia con los intervalos reportados en la literatura. Se evidencia que las técnicas de selección de variables utilizadas no habían sido aplicadas por los autores que se relacionan en las Tablas III y IV, lo cual permite corroborar la validez de las mismas en la identificación de variables de predicción para la glucosa al coincidir con algunos de los hallazgos anteriores. Los errores RMSECV promedio obtenidos para la región MIR en las diferentes matrices oscila entre 24 mg/dl y 62 mg/dl donde se identifica el aumento drástico del error al trabajar con una muestra de mayor complejidad como lo es la sangre, en la cual se obtuvo un valor de 61,9 mg/dl como menor error RMSECV, mientras que para las muestras de agua y plasma se obtuvieron errores hasta de 24,2 mg/dl y 25,6 mg/dl respectivamente. Para la región NIR, a pesar de haber obtenido errores de 45,3 mg/dl y 20,4 mg/dl para las muestras de agua y plasma respectivamente, el menor error

reportado para las muestras de sangre fue de 47,9 mg/dl, lo cual evidencia un mejor desempeño de esta región en comparación con la MIR para muestras de alta complejidad. A pesar de haber obtenido errores relativamente bajos para ambas regiones, algunos estudios que aplican la Información Mutua como técnica de selección de variables reportan un mejor desempeño al emplear modelos de regresión no lineales posterior a la selección por IM, por lo cual una posible razón para no haber obtenido un rango menor del error RMSECV pudo obedecer a la utilización de modelos de regresión lineales como lo son LR, PLSR, y PCR.

Fig. 7-4: Prototipo SOKIS



No
las
elección
repetitividad
interferencias

La cantidad de glucosa presente, ya sea en el fluido intersticial o en el humor acuoso, genera cambios en las propiedades ópticas de dichas sustancias y los tejidos que los contienen, se requieren instrumentos con buena precisión y un alto rechazo a interferencias y ruido producido por las condiciones ambientales donde se hace la medición (tales como temperatura, luz externa, ruido ambiental), y por componentes del organismo con propiedades ópticas similares a las de la glucosa.

existe una parte del cuerpo que cumpla de forma ideal con características perfectas para aplicar la medición. La depende de la facilidad en la toma de muestras, la del procedimiento, y la necesidad de evitar tejidos con provocadas por las concentraciones de grasa, los huesos, la saliva o restos de comida, pero de acuerdo con varios estudios es posible adecuar protocolos que permitan disminuir dichas interferencias.

El mayor propósito de un monitoreo continuo de glucosa concluye en una forma más fácil y flexible de gestionar la diabetes, es decir, la información aportada constantemente de los niveles de glucosa de un paciente nos brinda una imagen completa de la glucemia a lo largo de todo el día por medio de la cual podemos generar un sistema de alarmas de tendencia y predictivas, y la posibilidad de ajustar la comida que se ingiere, el ejercicio que se practica, la dosis de medicamentos ingeridos. Un mayor conocimiento de los niveles de glucemia en el tiempo permite reducir los riesgos de complicaciones como la ceguera, los ataques cardíacos, la insuficiencia renal y la amputación. Cabe aclarar que un monitoreo continuo de glucosa no reemplaza las pruebas realizadas en sangre. La información obtenida del monitoreo, además de verse en la pantalla del reloj, se puede descargar a través de un software a un PC/Dispositivo móvil para facilitar la lectura y el análisis de la información llevando a un mejor control y eventualmente una mejora de la salud y la calidad de vida del paciente.

Ya se ha demostrado que la Espectroscopia de Infrarrojo es la técnica más acertada a la hora de obtener los valores de la glucosa sin causar mayor trauma en la vida del paciente dejándola en la mejor posición para buscar el desarrollo de una mayor aplicación de la misma basada en investigaciones previas y pensando en la comodidad del paciente por medio de este proyecto se quiere dar a conocer el diseño de un prototipo reloj de pulsera cuyas mediciones sean más precisas y cuya tecnología sea accesible a los pacientes de menores recursos. Como es conocido hay varias empresas que han desarrollado dispositivos similares al propuesto en este proyecto, que hasta incluyen aún la capacidad de medir otras variables, pero hasta el momento ninguno en Colombia. Todas estas tecnologías están siendo desarrolladas en otros países y tal como ha sucedido con otros avances probablemente seremos unos de los últimos en recibirlos, diferencia sería si nosotros mismos lo desarrollamos, dicho dispositivo no sería invasivo lo cual beneficiará en gran medida a reducir los traumas que puede generar el control adecuado de la Diabetes enfocado en el mejoramiento del protocolo para la toma de muestras espectrales y del desarrollo tecnológico de los elementos utilizados para la medición no invasiva del nivel glucosa usando NIR, tal que permitan que la técnica sea clínicamente aceptada.

Antes de introducir un monitor continuo de glucosa en la vida de un paciente, esta persona debe primero formarse en su uso después de determinar si un monitor continuo de glucosa es adecuado para el paciente que lo vaya a usar, por dicha razón se piensa a futuro como una opción que se pueda introducir en el sistema de salud actual para que todos los pacientes que padecen de Diabetes, bien sea Tipo I o II mantengan sus niveles de glucosa como es debido.

8. Conclusiones

El alarmante crecimiento a nivel de la Diabetes a nivel mundial nos dan a entender que su continuo monitoreo es la parte mas importante en su manejo, siendo este el único medio de mantener los niveles de glucosa dentro del rango fisiológico normal, y que a futuro le permitiría a los pacientes disfrutar de una vida sin complicaciones anexas. En la actualidad se están desarrollando muchos estudios en busca de la cura de la Diabetes, el monitoreo no invasivo a pesar de ser indoloro y permitir un monitoreo frecuente necesita estudios mas robustos e intensas investigaciones que permitan obtener resultados mas exactos.

Los resultados obtenidos con esta investigación se prestan para realizar diferentes análisis y contrastes estadísticos debido a las combinaciones de técnicas aplicadas. La selección de los mejores modelos de regresión de acuerdo al criterio del RMSECV, permite concluir que tanto la primera como la segunda derivada realizan una mejor identificación de las longitudes de onda que se relacionan con la concentración de glucosa y brindan una alta información acerca de la misma.

En relación a las técnicas de selección utilizadas, se concluyó que la mezcla entre las variables más relevantes de acuerdo a la IM y el FM presentaron una mayor correlación con la concentración de glucosa que otro tipo de selección como la que comprende del set que maximiza la IM, o las regiones identificadas de forma visual. Al obtener este resultado con la técnica mencionada, se hace evidente que la implementación de un algoritmo similar al utilizado para el caso de IM sería de gran utilidad en estudios futuros. De acuerdo a las Tablas III y IV, de las longitudes de onda subrayadas como variables más importantes, se observa una coincidencia con varios autores para la región MIR comprendida entre 648 cm^{-1} y 1250 cm^{-1} , y para la región NIR entre 5190 cm^{-1} y 5700 cm^{-1} . Sin embargo, también se identificó que algunas de estas regiones no se encuentra reportadas en la literatura consultada, como lo son las longitudes de onda entre 2350 cm^{-1} y 2565 cm^{-1} para el espectro MIR, y entre 11100 cm^{-1} y 11950 cm^{-1} para el espectro NIR.

El hecho de que las regiones de mayor importancia seleccionadas en todo el estudio tengan poca coincidencia con las más frecuentes en los modelos de plasma y sangre evidencia la necesidad de más estudios enfocados en muestras de alta complejidad, las cuales pueden incluir también simuladores de tejido con el fin de tener un mayor acercamiento a la medición no invasiva de la molécula.

En relación a los valores RMSECV obtenidos, se debe resaltar que valores desde 20,4 mg/dl en plasma, hasta 61,9 mg/dl en sangre, son errores que no serían aceptados en el ámbito clínico, por lo cual el método tal y como se describe debe ser mejorado con técnicas de procesamiento de señales para ser lo suficientemente fiable y permitir una medición que pueda estar cerca de implementarse en el ámbito médico.

Los Glucometros actuales han alcanzado una instancia avanzada en términos de costo-efectividad, análisis de la información, conveniencia y el desarrollo de equipos sofisticados, pero se necesita una mejora constante. Muchas compañías han empezado ahora a desarrollar interfaces con dispositivos móviles, lo que ha demostrado ser de gran utilidad para tener una imagen completa de la diabetes como tal.

Sin embargo, estos dispositivos de monitoreo no invasivos no son todavía del todo atractivos. Se necesitan esfuerzos enormes de investigación para desarrollar un dispositivo de monitorización continua completamente fiable, que sea portátil y discreto a la hora de ser usado. Los únicos dispositivos que han cumplido estos criterios, aunque sólo parcialmente, son los Sistemas electroquímicos aprobados por la FDA.

Bibliografía

- [1] ACTA MÉDICA GRUPO ÁNGELES. Cirugía metabólica. Diabetes mellitus tipo 2 y cirugía. Vol.; 6, No. 1. (Ene-Mar. 2008); p 40.
- [2] LÓPEZ STEWART, Gloria. “Nueva clasificación y criterios diagnósticos de la diabetes mellitus” {En línea}. {Julio de 1998} disponible en: (http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-98871998000700012).
- [3] GLOBAL DIABETES SCORECARD. Tracking progress for action. Belgica. INTERNATIONAL DIABETES FEDERATION. 2014.
- [4] DAVIES, Vanessa. Diabetes, su historia y sus secretos. Caracas, 2000. 6p.
- [5] MEDICINA INTERNA DE MÉXICO. Diabetes mellitus tipo 2 en niños y adolescentes. Vol.; 26, No, 1. (Ene-Feb. 2010); p 36.
- [6] TUNEZ, Gabriel. “¿Qué es la Diabetes Gestacional?” {En línea}. {18 Abril de 2013} disponible en: (<http://www.enfermedad-de.org/hematologia/diabetes-gestacional>).
- [7] GRAL, Claudia Rosana. PASOTTI, Natalia Silvina. Espectrofotometría visible – ultravioleta. Corrientes. 2006. 12-13p.
- [8] PROYECTO DE LEY_____DE 2016. Por medio de la cual se establecen medidas de salud pública para el control de la obesidad y otras enfermedades crónicas no transmisibles derivadas y se dictan otras disposiciones. Bogotá. CONGRESO DE LA REPUBLICA DE COLOMBIA – CAMARA DE REPRESENTANTES- 2016.
- [9] ÁLVAREZ ALDANA, Dagoberto. RODRÍGUEZ BEBERT, Yuliet. Historia de la diabetes mellitus (Cronología). Ciego de Avila. 2005
- [10] Global Industry Analysts, Inc “Biosensors - Global Strategic Business Report” {En línea}. {Noviembre de 2014} disponible en:

(http://www.researchandmarkets.com/reports/338842/biosensors_global_strategic_business_report).

- [11] VASHIST, Sandeep. ZHENG, Dan. AL-RUBEAN, Khalid. LUONG, John. SHEU, Fwu-Shan. *Analytica Chimica Acta*. Singapore. (2011) 124–136p.
- [12] A. Tura, A. Maran, G. Pacini, *Diab. Res. Clin. Pract.* 77 (2007) 16–40.
- [13] C.E.F.D. Amaral, B. Wolf, *Med. Eng. Phys.* 30 (2008) 541–549.
- [14] B. Leboulanger, R.H. Guy, M.B. Delgado-Charro, *Physiol. Meas.* 25 (2004) R35–R50.
- [15] R.T. Kurnik, J.J. Oliver, S.R. Waterhouse, T. Dunn, Y. Jayalakshmi, M. Lesho, M. Lopatin, J. Tamada, C. Wei, R.O. Potts, *Sens. Actuators B: Chem.* 60 (1999) 19–26.
- [16] K.R. Pitzer, S. Desai, T. Dunn, S. Edelman, Y. Jayalakshmi, J. Kennedy, J.A. Tamada, R.O. Potts, *Diab. Care* 24 (2001) 881–885.
- [17] T.A. Hillier, R.D. Abbott, E.J. Barrett, *Am. J. Med.* 106 (1999) 399–403.
- [18] I. Ermolina, Y. Plevaya, Y. Feldman, *Eur. Biophys. J.* 29 (2000) 141–145.
- [19] Y. Plevaya, I. Ermolina, M. Schlesinger, B.Z. Ginzburg, Y. Feldman, *Biochim. Biophys. Acta* 1419 (1999) 257–271.
- [20] O.S. Khalil, *Clin. Chem.* 50 (2004) 2236–2237.
- [21] C.D. Malchoff, K. Shoukri, J.I. Landau, J.M. Buchert, *Diab. Care* 25 (2002) 2268–2275.
- [22] S.J. Yeh, C.F. Hanna, O.S. Khalil, *Clin. Chem.* 49 (2003) 924–934.
- [23] S.F. Malin, T.L. Ruchti, T.B. Blank, S.N. Thennadil, S.L. Monfre, *Clin. Chem.* 45 (1999) 1651–1658.
- [24] K. Maruo, M. Tsurugi, J. Chin, T. Ota, H. Arimoto, Y. Yamada, M. Tamura, M. Ishii, Y. Ozaki, *IEEE J. Sel. Top Quant. Electron.* 9 (2003) 322–330.
- [25] W. Schrader, P. Meuer, J. Popp, W. Kiefer, J.U. Menzebach, B. Schrader, *J. Mol. Struct.* 735–736 (2005) 299–306.
- [26] S. Kasemsumran, Y. Du, K. Maruo, Y. Ozaki, *Chemom. Intel. Lab. Syst.* 82 (2006) 97–103.
- [27] D.D. Cunningham, J.A. Stenken (Eds.), *In Vivo Glucose Sensing*, John Wiley & Sons, Inc., New Jersey, 2010 (Chapter 13: Near-infrared spectroscopy for noninvasive glucose sensing).

-
- [28] R.G. Sibbald, S.J. Landolt, D. Toth, *Endocrinol. Metab. Clin. North Am.* 25 (1996) 463–472.
- [29] V.M. Monnier, O. Bautista, D. Kenny, D.R. Sell, J. Fogarty, W. Dahms, P.A. Cleary, J. Lachin, S. Genuth, *Diabetes* 48 (1999) 870–880.
- [30] S.J. Yeh, O.S. Khalil, C.F. Hanna, S. Kantor, *J. Biomed. Opt.* 8 (2003) 534–544.
- [31] H. Yki-Jarvinen, T. Utriainen, *Diabetologia* 41 (1998) 369–379.
- [32] P.H. Oomen, G.D. Kant, R.P. Dullaart, W.D. Reitsma, A.J. Smit, *Microvasc. Res.* 63 (2002) 1–9.
- [33] G. Mazarevica, T. Freivalds, A. Jurka, *J. Biomed. Opt.* 7 (2002) 244–247.
- [34] R. Fusman, R. Rotstein, K. Elishkewich, D. Zeltser, S. Cohen, M. Kofler, *Acta Diabetol.* 38 (2001) 129–134.
- [35] W.B. Martin, S. Mirov, R. Venugopalan, *J. Biomed. Opt.* 7 (2002) 613–618.
- [36] Y.C. Shen, A.G. Davies, E.H. Linfield, T.S. Elsey, P.F. Taday, D.D. Arnone, *Phys. Med. Biol.* 48 (2003) 2023–2032.
- [37] L. Brancalion, M.P. Bamberg, T. Sakamaki, N. Kollias, *J. Invest. Dermatol.* 116 (2001) 380–386.
- [38] L.M. Harvey, B. McNeil, *Anal. Chim. Acta* 561 (2006) 218–224.
- [39] K. Tamura, K. Fujita, W. Kaneko, N.T.N.T. Linh, H. Ishizawa, E. Toba, *Instrumentation and Measurement Technology Conference, 2004, Proc. 21st IEEE*, vol. 3, 2004, pp. 1970–1974.
- [40] S.N. Thennadil, J.L. Rennert, B.J. Wenzel, K.H. Hazen, T.L. Ruchti, M.B. Block, *Diab. Technol. Ther.* 3 (2001) 357–365.
- [41] O. Cohen, I. Fine, E. Monashkin, A. Karasik, *Diab. Technol. Ther.* 5 (2003) 11–17.
- [42] H.M. Heise, R. Marbach, *Cell Mol. Biol. (Noisy-le-grand)* 44 (1998) 899–912.
- [43] Y. Wickramasinghe, Y. Yang, S.A. Spencer, *J. Fluoresc.* 14 (2004) 513–520.
- [44] T.J. Allen, B.T. Cox, P.C. Beard, *Proc. SPIE* 5697 (2005) 233–242.
- [45] D.I. Ellis, R. Goodacre, *Analyst* 131 (2006) 875–885.
- [46] A.J. Berger, I. Itzkan, M.S. Feld, *Spectrochim. Acta A* 53 (1997) 287–292.
- [47] A. Ergin, G.A. Thomas, Chapter title, in: *31st IEEE Annual Northeast Bioengineering Conference*, Hoboken, April 2–3, 2005, pp. 246–247.
- [48] A. Domschke, W.F. March, S. Kabilan, C. Lowe, *Diab. Technol. Ther.* 8 (2006) 89–93.
- [49] J.T. Baca, C.R. Taormina, E. Feingold, D.N. Finegold, J.J. Grabowski, S.A. Asher,

- Clin. Chem. 53 (2007) 1370–1383.
- [50] R. Badugu, J.R. Lakowicz, C.D. Geddes, *Cur. Opin. Biotechnol.* 16 (2005) 100–107.
- [51] O.S. Khalil, *Diab. Technol. Ther.* 6 (2004) 660–697.
- [52] W. March, D. Lazzaro, S. Rastogi, *Diab. Technol. Ther.* 8 (2006) 312–317.
- [53] E.A. Moschou, B.V. Sharma, S.K. Deo, S. Daunert, *J. Fluoresc.* 14 (2004) 535–547.
- [54] J. Sandby-Moller, T. Poulsen, H.C. Wulf, *Photochem. Photobiol.* 77 (2003) 616–620.
- [55] B.D. Cameron, J.S. Baba, G.L. Cote, *Diab. Technol. Ther.* 3 (2001) 201–207.
- [56] G.C. Cote, *J. Nutr.* 131 (2001) 596S–604S.
- [57] R.J. McNichols, G.L. Cote, *J. Biomed. Opt.* 5 (2000) 5–16.
- [58] S. Jang, M.D. Fox, *Bioengineering Conference, 1997, Proc. IEEE 1997 23rd Northeast, 1997*, pp. 11–12.
- [59] M. Yokota, Y. Sato, I. Yamaguchi, T. Kenmochi, T. Yoshino, *Meas. Sci. Technol.* (2004) 143–147.
- [60] R. Rawer, W. Stork, C.F. Kreiner, *Graefe's Arch. Clin. Exp. Ophthalmol.* 242 (2004) 1017–1023.
- [61] Y.L. Lo, T.C. Yu, *Opt. Commun.* 259 (2006) 40–48.
- [62] S. Lee, V. Nayak, J. Dodds, M. Pishko, N.B. Smith, *Ultrasound Med. Biol.* 31 (2005) 971–977.
- [63] S.M. Alavi, M. Gourzi, A. Rouane, M. Nadi, *Proceedings of the 23rd Annual International Conference of the IEEE, Istanbul, October 25–28, 2001*, vol. 4, 2001, pp. 3318–3320.
- [64] R.O. Potts, J.A. Tamada, M.J. Tierney, *Diab. Metab. Res. Rev.* 18 (2002) S49–S53.
- [65] M.J. Tierney, Y. Jayalakshmi, N.A. Parris, M.P. Reidy, C. Uhegbu, P. Vijayakumar, *Clin. Chem.* 45 (1999) 1681–1683.
- [66] M.J. Tierney, J.A. Tamada, R.O. Potts, L. Jovanovic, S. Garg, *Biosens. Bioelectron.* 16 (2001) 621–629.
- [67] R. Panchagula, O. Pillai, V.B. Nair, P. Ramarao, *Curr. Opin. Chem. Biol.* 4 (2000) 468–473.
- [68] H.D. Park, K.J. Lee, H.R. Yoon, H.H. Namb, *Comput. Biol. Med.* 35 (2005) 275–286.
- [69] E. Tsalikian, R.W. Beck, W.V. Tamborlane, H.P. Chase, B.A. Buckingham, *Diab. Care* 27 (2004) 722–726.
- [70] I.M.E. Wentholt, J.B.L. Hoekstra, A. Zwart, J.H. DeVries, *Diabetologia* 48 (2005)

1055–1058.

[71] A. Caduff, E. Hirt, Y. Feldman, Z. Ali, L. Heinemann, *Biosens. Bioelectron.* 19 (2003) 209–217.

[72] A. Pfitzner, A. Caduff, M. Larbig, T. Schrepfer, T. Forst, *Diab. Technol. Ther.* 6 (2004) 435–441.

[73] A. Caduff, F. Dewarrat, M. Talary, G. Stalder, L. Heinemann, Y. Feldman, *Biosens. Bioelectron.* 22 (2006) 598–604.

[74] D. Freger, A., Gal, A.M. Raykhman, US patent application, US 6954662 B2.

[75] I. Harman-Boehm, A. Gal, A.M. Raykhman, J.D. Zahn, E. Naidis, Y. Mayzel, *J. Diab. Sci. Technol.* 3 (2009) 253–260.

[76] R. Weiss, Y. Yegorchikov, A. Shusterman, I. Raz, *Diab. Technol. Ther.* 9 (2007) 68–74.

[77] <http://www.c8-inc.com/us/press-release.html>, 2012 (February 28).

[78] <http://web.mit.edu/newsoffice/2010/glucose-monitor-0809.html>, 2012 (January 14).

[79] I. Barman, C.-R. Kong, G.P. Singh, R.R. Dasari, M.S. Feld, *Anal. Chem.* 82 (2010) 6104–6114.

[80] <http://blogs.umsl.edu/news/2011/03/29/glucose/>, 2012 (January 14).

[81] B.P. Kovatchev, L.A. Gonder-Frederick, D.J. Cox, W.L. Clarke, *Diab. Care* 27 (2004) 1922–1928.

[82] NUEVOS REJOLES. Smartwatch “Reloj inteligente ImasD Health, con funciones de chequeo médico de ImasD Tecnología” {En línea}. {24 Junio de 2014} disponible en: (<http://nuevosrelojes.com/smartwatch/reloj-inteligente-imasd-health-con-funciones-de-chequeo-medico-de-imasd-tecnologia/>).

[83] ABBOTT. A promise for life. “FreeStyle Libre” {En línea}. {2014-2015} disponible en: (<http://www.freestylelibre.es/>).

[84] PLEITEZ, Miguel. VON LILIENFELD-TOAL, Hermann. MANTELE, Werner. Infrared spectroscopic analysis of human interstitial fluid in vitro and in vivo using FT-IR spectroscopy and pulsed quantum cascade lasers (QCL): Establishing a new approach to non-invasive glucose measurement. Frankfurt. (2011).

[85] CASTRO, Ismael. VARGAS, Juan. FONTHAL, Ernesto. Identificación de longitudes de onda en las regiones NIR y MIR para la medición no invasiva de glucosa en sangre. Cali. (2012).